Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf Potential und Widerstand der isolierten Froschhaut

Klaus-Rüdiger Trott

München

1967

Aus dem Strahlenbiologischen Institut der Universität München
Direktor: Professor Dr. Otto Hug

Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf Potential und Widerstand der isolierten Froschhaut

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig - Maximilian - Universität zu München

vorgelegt von

Klaus - Rüdiger T R O T T
aus München

München 1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. O. HUG

Dekan: Prof. Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 7.11.1967

Fotodruck: Mikrokopie GmbH, 8 München 22, Bruderstraße 9

Inhaltsverzeichnis

Einleitung

Sofortreaktionen auf Röntgenstrahlen 1

Frühere Untersuchungen über die Wirkung von Röntgen- und UV - Strahlen auf die Froschhaut 1

Methode

1. Material 3
2. Kammer und Umwälzvorrichtung 3
3. Spannungsmessung 4
4. Widerstandsmessung 6
5. Temperaturmessung 8
6. Sauerstoffmessung 9

Ergebnisse

1. Spontane Änderungen während der Dauer der Versuche 10
2. Verdünnung der äußeren Lösung 10
3. Jahreszeitliche Abhängigkeit der elektrischen Phänomene 12
4. Wirkung sichtbaren Lichtes 13
5. Anoxie 13
6. Bestrahlung in Sauerstoff 16
7. Bestrahlung in Stickstoff 23

Diskussion

1. Modell der Entstehung des Froschhautpotentials 27
2. Neuere Arbeiten zur Elektrophysiologie der Froschhaut 30
3. Der Einfluß der Jahreszeit 33
4. Anoxie und Verdünnung der Außenlösung 35
5. Reaktion von Potential und Widerstand der Froschhaut auf Bestrahlung 37

Zusammenfassung 45

Literaturverzeichnis 46

Einleitung

Sofortreaktionen auf Röntgenstrahlen

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von funktionellen Sofortreaktionen von Organen und Organismen auf Röntgenstrahlen beobachtet, die wichtige neue Hinweise auf den Mechanismus der biologischen Wirkung ionisierender Strahlen brachten. So zeigten die von HUG (1958) beobachteten Fühlerreflexe von Schnecken charakteristische Eigenschaften eines Reiz - Erregungsvorganges und legten die Vermutung nahe, daß sie und ähnliche Sofortreaktionen anderer niederer Tiere (HUG, 1960; BERGEDER, 1965) durch flüchtige Änderungen des Funktionszustandes von Membranen hervorgerufen werden, analog den Membranpermeabilitätsänderungen bei der normalen Erregung von Nerven und Muskeln. Untersuchungen an Nerv - Muskelpräparaten wirbelloser Tiere und glattmuskulären Organen von Wirbeltieren (HUG, 1959; HUG u.a., 1960), an Mimosen (HUG u.a., 1962; HUG u.a., 1964) und an Algen (ESCH u.a., 1964) bestätigten diese Vermutung. Im Rahmen dieses Programms wurde auch die vorliegende Arbeit durchgeführt, wobei die Froschhaut als in seinen Eigenschaften gut bekanntes biologisches Membranmodell besonders günstige Bedingungen versprach, um unter der Bestrahlung auftretende Änderungen des Membranpotentials und des elektrischen Widerstandes zu registrieren.

Frühere Untersuchungen über die Wirkung von UV- und Röntgenstrahlen auf die Froschhaut

Die Froschhaut wird schon seit vierzig Jahren in strahlenbiologischen Versuchen unter den verschiedensten Fragestellungen verwendet. So führten AMOROSO u.a. (1959) Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der Bildung von Strahlenulzera durch Fraktionierung der Strahlendosis durch. BERGSTRÖM u.a. (1961) fanden nach Dosen von 20 bis 100 kR eine Abnahme der

Elastizität der Haut. BRINKMANN u.a. (1962) teilten Beobachtungen über eine sehr schnell nach Bestrahlung einsetzende Pigmentvermehrung bei hypophysektomierten Fröschen mit, die sie auf eine Freisetzung von Serotonin durch die Bestrahlung zurückführten. Andere Arbeiten befaßten sich mit der Reaktion der Hautkapillaren auf UV - Strahlen (BÜCKER u.a., 1957).

Die weitaus meisten Untersuchungen aber wurden durchgeführt, um Veränderungen der Ionenpermeabilität zu messen. Die erste Arbeit zu diesem Problem stammt von KROETZ aus dem Jahre 1927, der beim lebenden Frosch nach 10 - 30-facher HED (= 4-12 kR) Röntgenstrahlen eine deutliche Erhöhung der Chloridionenpermeabilität nachweisen konnte. Er schloß daraus, daß die erste erkennbare biologische Wirkung von Röntgenstrahlen eine Permeabilitätssteigerung sei. GERSTNER berichtete 1939 von Versuchen mit UV - Strahlen, wobei er die Veränderungen des elektrischen Widerstandes maß. GRAUL (1945, 1947, 1948) baute die Methode aus und konnte die Befunde GERSTNERs bestätigen, daß in den auf die Bestrahlung folgenden Stunden nach einem vorübergehenden Widerstandsanstieg die Durchlässigkeit der Haut erheblich zunimmt, ohne daß größere Veränderungen der Polarisation auftreten. Durch die damit verbundenen Elektrolytverschiebungen können schwere sekundäre Störungen verursacht werden, wie auch von CANEGHEM (1964) berichtet wurde. VAN DER SCHUEREN u.a. (1958) und BONTE (1958) konnten die Überlebensrate ganzkörperbestrahlter Tiere erheblich verbessern, wenn sie sie in eine Ringerlösung statt in reines Leitungswasser setzten, wodurch ein stärkerer Elektrolytverlust verhindert wurde. Die Autoren nahmen dieses Ergebnis als Bestätigung ihrer Hypothese, daß Elektrolytverluste auf Grund der durch die Strahlung verursachten Membranstörung für den Tod der Frösche nach UV-bestrahlung verantwortlich sind. KRIGER u.a. (1959) fanden ebenfalls eine Permeabilitätserhöhung, führten sie aber auf eine erhöhte Aktivität der Hautdrüsen zurück. Fortlaufende Untersuchungen von Widerstand und Potential während der Bestrahlung wurden bisher noch nicht durchgeführt.

Methode

Meine Experimente stützten sich methodisch auf die grundlegenden Arbeiten von USSING und anderen, die zu Beginn der Diskussion kurz dargestellt werden sollen.

1. Material

Als Versuchsobjekt diente der Wasserfrosch RANA ESCULENTA. Die Tiere wurden von April bis Juni und im November im Dachauer Moos gefangen und bis zum Versuch in Betonbottichen bei 14 °C gehalten. In Gefangenschaft wurden sie nicht gefüttert. Männchen und Weibchen zeigten keine signifikant unterschiedlichen Reaktionen.

Die Bauchwand dekapitierter Tiere wurde sorgfältig abpräpariert, in Ringerlösung gewaschen und dann für die Versuche verwendet.

2. Kammer und Umwälzvorrichtung

Die Meßkammer glich denen, die USSING (1951) und andere benutzt haben (Abb.1). Um eine allzugroße Absorption der Röntgenstrahlen in den der Haut vorgelagerten Medien zu verhindern, mußte das Modell etwas abgeändert werden.

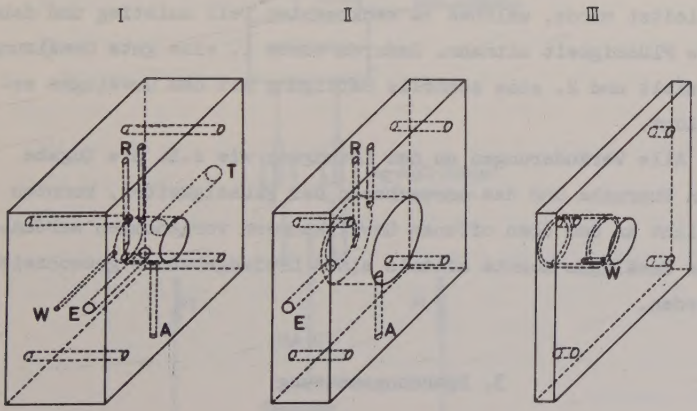


Abb.1: Isometrie der Kammer im Maßstab 1 : 3.
Einzelheiten im Text.

Sie bestand aus zwei Plexiglasblöcken (I und II), die so zusammengeschraubt wurden, daß die Haut zwischen beide als Membran eingespannt wurde und dabei zwei Hohlräume von einander trennte, die die Meßkammern darstellten. Block III diente als Bestrahlungsschacht, der in die breite Bohrung von Block II hineingeschoben wurde, sodaß ein Verlust an wirksamer Strahlung durch Absorption nur an dem 0,1 mm starken Glasfenster und der 3 mm dicken Wasserschicht zwischen Fenster und Haut stattfand.

Durch Bohrlöcher konnten Elektroden in die Meßkammern eingeführt werden: durch E die Spannungselektroden, durch T die Temperaturelektrode. Durch ein in W fest montiertes Kabel gelangte der 0,17 Hertz Wechselstrom zur Widerstandsmessung an die eingebauten Platinelektroden. Über R konnte die Verbindung mit der Umwälzvorrichtung hergestellt werden. Zum schnellen Wechseln der Lösungen dienten die Ablaufbohrungen A.

Die Bohrungen waren so berechnet, daß sich auf beiden Seiten der Haut in der Kammer sowie im Umwälzsystem je 30 ml Flüssigkeit befanden.

Die Elektrolytlösungen wurden in zwei offene Kammern gegeben, die in ihrem Boden je zwei Bohrungen zur Verbindung mit den Umwälzbohrungen R hatten. Die eine Verbindung wurde über ein T - Rohr geschaffen, in dem von der Seite her das Gas zugeleitet wurde, welches im senkrechten Teil aufstieg und dabei die Flüssigkeit mitnahm. Dadurch wurde 1. eine gute Umwälzung erzielt und 2. eine schnelle Sättigung mit dem Umwälzgas erreicht.

Alle Veränderungen an den Lösungen, wie z.B. die Zugabe von Pharmaka und das Auswechseln der Flüssigkeiten, konnten leicht an den oben offenen Umwälzkammern vorgenommen werden. Das Umwälzgas konnte mittels eines Dreiwegehahnes gewechselt werden.

3. Spannungsmessung

Die Spannungsmeßelektroden waren mit 1 - molarem KCl - Agar gefüllt, in den ein chlorierter Silberstift, der am anderen Ende an die abgeschirmte Leitung angelötet war,

hineinragte. Sie hatten einen Widerstand von ca. 1 kOhm. Als Vorverstärker diente ein Knick pH - meter mit einem Eingangswiderstand von mehr als $5x10^{11}$ Ohm. Der positive Pol der Leitung wurde wie die Abschirmung über das Gerät geerdet. Der Ausgang des Vorverstärkers wurde geteilt, der eine Teil direkt mit dem einen Gleichspannungseingang des Tektronix Oszilloskops verbunden, der zweite über einen Wechselspannungsvorverstärker zur Widerstandsmessung (s.u.) an den anderen Verstärker des Oszilloskops geführt. Die Ablenkspannung der horizontalen Platten konnte abgegriffen werden und der Schreiber damit gespeist werden. Das Hautpotential wurde mit einem Philips Miniaturkompensator bei einer Papiergeschwindigkeit von 60 mm/h, der Widerstand mit einem Bausch und Lomb Laboratory Recorder mit vierfacher Geschwindigkeit geschrieben.

SCHALTBILD

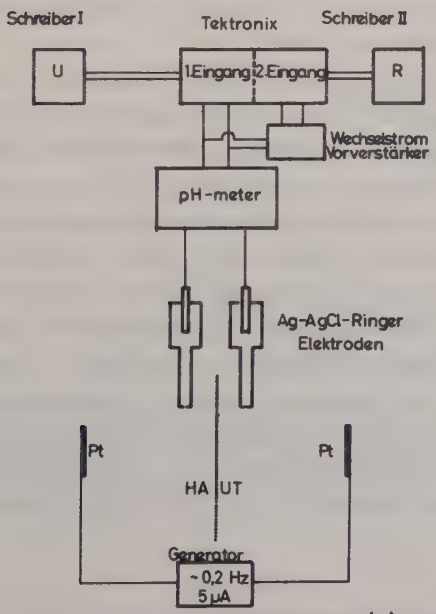


Abb.2: Schaltbild der Spannungs (U)- und der Widerstandsmessung (R).

4. Widerstandsmessung

a) Prinzip der Permeabilitätsmessungen

Es bestehen im Prinzip zwei Möglichkeiten, die Permeabilität einer Membran zu messen: 1. mit elektrischen Methoden, 2. durch Messung des Durchtrittvermögens bestimmter Indikatormoleküle von einer Seite zur anderen.

Die ältesten Arbeiten über elektrische Messungen des Widerstandes der Froschhaut stammen von GILDEMEISTER(1919), der schon über die bemerkenswert hohe Polarisation der Haut berichtete. Die GILDEMEISTERsche Methode wurde vor allem von GERSTNER (1939, 1943), GRAUL (1945, 1947, 1948) und LINDERHOLM (1952) in jeweils modifizierter Form benutzt.

KROETZ (1927) nahm die Abnahme der Chloridionenkonzentration der äußeren Lösung als Maß für die gerichtete Permeabilität, spätere Autoren nahmen Fremdstoffe als Indikatoren, z.B. Methylenblau (AMSON, 1930), Rhodanit (GERSTNER, 1943), Harnstoff (GARBY, 1954) oder in letzter Zeit in zunehmendem Maße radioaktive Isotopen wie ^{24}Na und ^{38}Cl (z.B. USSING, 1949), aber auch D_2O (HÜBNER u.a., 1964).

GERSTNER (1943) stellte fest, daß der "Parallelwiderstand für niedrige Frequenzen" der Rhodanitpermeabilität direkt proportional ist. Er schlug den OHMschen Widerstand als geeignete elektrische Meßgröße für die Erfassung der Ionendurchlässigkeit vor. Da bei der Gleichstrommessung unüberschaubare Polarisationen auftreten (GRAUL, 1947), wurde meist mit Wechselströmen verschiedener Frquenzen gearbeitet und der Phasenwinkel tg phi, d.i. der Quotient von Blindwiderstand und Wirkwiderstand als geeignetes Maß genommen (LULLIES). LINDERHOLM (1952) verwendete den sogenannten Permeabilitätswiderstand, d.i. die Differenz von Gleichstromwiderstand und Hochfrequenzwiderstand. Bei beiden Methoden ist aber der entscheidende Faktor der Gleichstromwiderstand, der die Elektrolytpermeabilität bestimmt.

Um eine möglichst polarisationsarme Gleichspannungsmessung zu erhalten, habe ich nach RÖTTINGER einen Viereckwechselstrom langsamer Frequenz mit eingeprägt konstanter Stromstärke genommen. Da nach den Messungen von GERSTNER (1939) die Stromspannungskennlinie der Froschhaut bis zu Spannungen von $\pm$ 30 mV eine Gerade ist, was bei 1 kOhm Hautwiderstand einer Stromstärke von 30 uA entspricht, bleibt man bei einem angelegten Strom von 5 uA mit Sicherheit im linearen Anfangsteil der Stromspannungscharakteristik, sodaß die Spannungsänderungen bei konstantem Strom als direktes Maß für den Widerstand genommen werden können.

b) Durchführung der Permeabilitätsmessungen

Als Stromquelle diente eine DEAC - Zelle mit 6 V Ausgangsspannung, die durch ein Schrittschaltrelais regelmäßig umgepolt wurde, wobei zwischen jeden Stromfluß eine Unterbrechung von doppelter Impulsdauer eingeschaltet wurde. Ein Grass - Stimulator steuerte das Schrittschaltrelais mit einer Frequenz von 1 Hertz, wodurch ein Viereckwechselstrom mit einer Frequenz von 0,17 Hertz resultierte. (Vergl. Abb. 3).

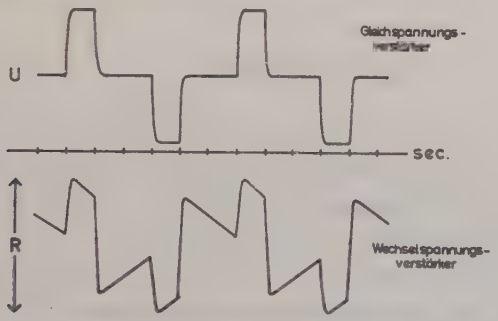


Abb.3: Der Viereckwechselstrom im Ausgang des Gleichspannungsverstärkers (oben) und des Wechselspannungsverstärkers (unten).

In die Lösungen ragten zwei Platinringe, über die der Strom geschickt wurde. Vor die Zuführung zu den Platinringen wurde ein 1,2 MOhm Widerstand gelötet. Da der Hautwiderstand zwischen 200 und 800 Ohm betrug (700 bis 2800 Ohm/cm^2), machte er etwa 0,05 % des Gesamtwiderstandes aus, sodaß selbst Änderungen des Hautwiderstandes von 100 % den Stromfluß nur in einer Größenordnung veränderten, die weit unter der Empfindlichkeit der Meßvorrichtung lag.

Beim Stromdurchgang entstand an der Haut ein Spannungsabfall proportional ihrem Widerstand, der seine Richtung mit der Frequenz von 0,17 Hertz dauernd umkehrte (Abb.3, oben). Die Grundlinie dieser Wechselspannung, d.i. das eigentliche Hautpotential, änderte sich spontan oder nach verschiedensten experimentellen Manipulationen, allerdings viel langsamer, als die aufgezwungenen Spannungsänderungen verliefen. Um diese langsamen Potentialschwankungen herauszufiltern, wurde vor den Schreiber ein Wechselspannungsvorverstärker geschaltet. Bei langsamer Registriergeschwindigkeit ergab sich dabei ein Band, dessen Breite ein Maß für den Widerstand war. (Vergl. Originalkurve Abb. 13).

5. Temperaturmessung

Die Temperatur der die äußere Hautschicht berührenden Lösung wurde mit einer Elektrode gemessen, die mit ihrer empfindlichen Spitze in die umgewälzte Flüssigkeit hineinragte. In die Elektrode war ein NTC - Widerstand eingeklebt, der auf Temperaturänderungen sehr schnell mit einer Widerstandsände. rung reagierte, die in üblicher Weise durch eine Wheatstonesche Brücke in eine Spannungsänderung umgewandelt wurde. Diese wurde auf einem Voltmeter abgelesen oder in besonderen Fällen kontinuierlich registriert.

Auf Konstanthaltung der Temperatur wurde während der Versuche besonders geachtet.

6. Sauerstoffmessung

Als Gas, das die Lösung umwälzte und dabei gleichzeitig aufsättigte, wurden wahlweise Sauerstoff, Carbogen, Argon, Stickstoff oder atmosphärische Luft genommen. Argon wurde statt Stickstoff verwendet, um auszuschließen, daß nach der Bestrahlung durch eventuell gebildete Stickoxydverbindungen sekundäre Reaktionen verursacht werden. Von besonderem Interesse war die Sauerstoffkonzentration der Lösung, zumal beim Wechsel zwischen Sauerstoff und Stickstoff (vergl. Abb. 4).

Sie wurde mit einem Beckman Physiological Gas Analyzer Modell 160 gemessen. Als Elektrode diente eine Sauerstoffmikroelektrodenanordnung, die durch eine Kanüle in die Kammer gebracht worden war.

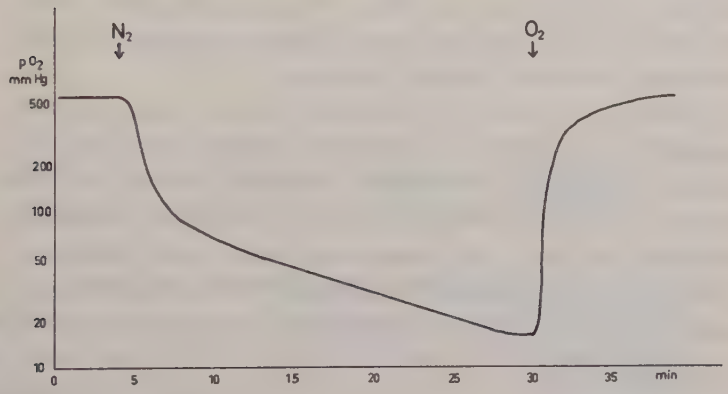


Abb. 4: Veränderung des Sauerstoffpartialdruckes in der Lösung nach Wechseln des Umwälzgases von Sauerstoff auf Stickstoff und von Stickstoff auf Sauerstoff.

Ergebnisse

1. Spontane Änderungen während der Dauer der Versuche

Zu Beginn der Versuche waren Widerstand und Potential der Froschhaut relativ niedrig, erst im Verlauf der ersten Stunde erreichten sie, wie schon andere Untersucher beschrieben haben (HUF, 1935), einen Wert, den sie für längere Zeit beibehielten. In dieser ersten Stunde, in der Potential und Widerstand zunahmen, habe ich möglichst keine Versuche gemacht, da hier auf Grund des labilen Zustandes der Haut nach den Ergebnissen der Vorversuche eine besonders große Streuung der Meßwerte zu erwarten war.

Nachdem das Potential nach 1 - 2 Stunden einen maximalen Wert von 40 - 70 mV (innen positiv) erreicht hatte, sank es langsam im Verlauf der nächsten Stunden ab. Der Widerstand hingegen stieg von ca. 800 Ohm/cm^2 nach 60 Minuten weiter auf das Zwei- bis Dreifache an. Unter günstigen Bedingungen konnte die Haut für die Dauer der Bestrahlungsversuche ein praktisch konstantes Potential aufrecht erhalten.

Artefakte von Seiten der Apparatur konnten sicher von den eigentlichen Ergebnissen unterschieden werden. Da ich nur relativ kurzdauernde Veränderungen untersuchte, konnte ich eine eventuelle Drift der Verstärker außer acht lassen. Andererseits äußerten sich trotz aller Abschirmung einstreuende Felder in sehr schnellen, ruckartigen Änderungen, die auch wieder ganz anders aussahen als die Veränderungen, die ich im Folgenden beschreiben will.

2. Verdünnung der äußeren Lösung

Meistens wird bei Experimenten mit der isolierten Froschhaut auf beiden Seiten Ringerlösung verwendet, um das Entstehen von Elektrodenpotentialen zu verhindern. Um die Versuchsbedingungen den natürlichen Verhältnissen anzupassen, wurde

außen auf ein Zehntel verdünnte Ringerlösung verwendet. Wie zu erwarten war, sank dadurch in vielen Fällen das Membranpotential deutlich ab. Nicht selten jedoch stieg das Potential an, vor allem, wenn man den Wechsel an einer Haut durchführte, die noch einen relativ niedrigen Widerstand hatte (Abb.5).

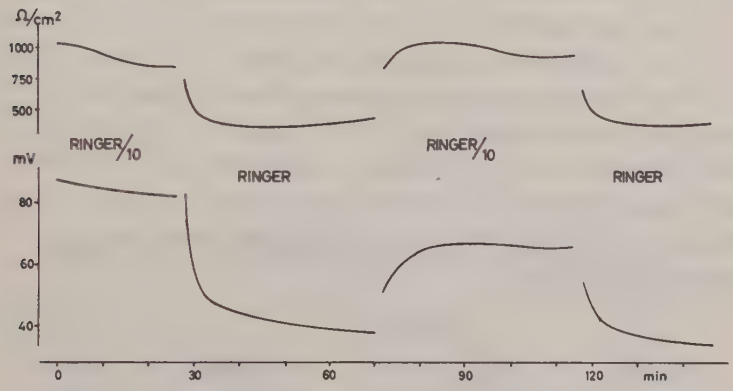


Abb. 5: Verlauf von Widerstand und Potential bei mehrfachem Konzentrationswechsel der äußeren Lösung. (Vers. 155)

Da unter diesen Versuchsbedingungen unterschiedliche Elektrodenpotentiale nicht zu vermeiden sind, sind die Spannungsangaben nicht sehr exakt. Eine Verdopplung des Potentials wie in Abbildung 5 ist aber auf Grund der Konzentrationsunterschiede allein nicht zu erklären. Da die Messungen des Widerstandes von dieser Fehlerquelle praktisch nicht beeinflußt wurden, kann er mit größerer Meßgenauigkeit angegeben werden. In dem hier abgebildeten Fall stieg der Widerstand bei Verdünnung der Außenlösung auf das 2 1/2-fache an.

Jahreszeitliche Abhängigkeit der elektrischen Phänomene

Während der zwei Jahre, über die sich die Versuche erstreckten, fiel mir auf, daß die elektrischen Eigenschaften der Froschhaut stark von der Jahreszeit abhingen. Dabei stellte sich heraus, daß es innerhalb eines Jahres zwei Perioden gibt:

1. die Sommermonate von April bis September,
2. die Wintermonate von Oktober bis März.

In der Tabelle I sind die Werte aus verschiedenen Messungen aus drei Sommermonaten (20 Versuche) mit denen dreier Wintermonate (15 Versuche) verglichen. Die Versuche fanden unter sonst gleichen Bedingungen statt. Als äußere Lösung wurde in allen Fällen auf ein Zehntel verdünnte Ringerlösung verwendet.

Tabelle I

Monat	Spannung mV	Widerstand Ohm	Strom uA
Juni - August	50 ± 15	800 ± 200	63 ± 15
Oktober - Dezember	46 ± 11	1800 ± 600	28 ± 9

Einfluß der Jahreszeit auf Spannung, Widerstand und berechneten Strom der Froschhaut bei Ringer/10 Außenlösung.
Mittelwerte und Standardabweichung nach 1 Stunde Versuchsdauer.

Die jahreszeitlichen Unterschiede des Widerstandes und des Stromes sind signifikant, dagegen konnte eine Abhängigkeit des Potentials von der Jahreszeit nicht nachgewiesen werden.

Noch in weiteren Eigenschaften ließen sich jahreszeitliche Einflüsse zeigen, so vor allem in der Steilheit des Widerstandsanstiegs nach Sauerstoffentzug und in dem initialen Potentialabfall nach Bestrahlung. Diese Erscheinungen sind in den entsprechenden Kapiteln behandelt.

4. Die Wirkung sichtbaren Lichtes

Unter günstigen Bedingungen konnte man eine deutliche Beeinflussung des Membranpotentials durch sichtbares Licht registrieren (Abb.6). Im Dunkeln war das Potential weitaus niedriger als bei Beleuchtung mit einer Mikroskopierlampe. Artefakte von Seiten der Elektroden und durch Erwärmung konnten ausgeschlossen werden. Da auch andere Untersucher eine Photosensibilität der Froschhaut gefunden hatten (KORANYI, 1892; PARKER, 1904; HOLMES, 1928; BONTE, 1958), habe ich meine Versuche stets bei konstanten Lichtverhältnissen durchgeführt.

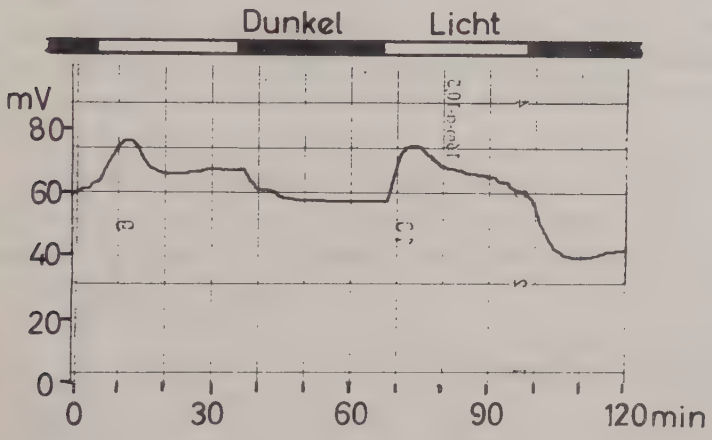


Abb.6: Originalkurve Versuch Nr. 35: Verlauf des Potentials bei periodischem Lichtwechsel.

5. Anoxie

Ließ man Sauerstoff durch die Lösungen perlen, dann stellten sich Membranpotential und Widerstand bald auf ein relativ konstantes Gleichgewicht ein. Entzog man den Lösungen

Stickstoff durchperlen ließ, dann traten innerhalb weniger Minuten starke Änderungen von Widerstand un Potential auf. Dagegen war die Widerstandssteigerung unter Stickstoffatmosphäre auf das Zwei- bis Dreifache, die FINKELSTEIN (1963) beschrieb, ein wesentlich langsamerer Vorgang, der 1 - 2 Stunden benötigte.

Das Potential stieg erst an und sank dann ab, jedoch nie bis auf Null, sondern meist auf einen Wert, der annähernd in der Mitte zwischen Null und dem Ausgangswert lag (Abb. 12). Sehr konstant war die Größe des Abfalls aber nicht; in manchen Fällen blieb das Ausgangspotential sogar erhalten (Abb.7). Deutlicher und eindrucksvoller war das Verhalten des Widerstandes. Nach einer Latenzzeit von zwei bis vier Minuten, die wohl daher kam, daß der Entzug des Sauerstoffs eine gewisse Zeit braucht (vergl. Abb. 4), erfolgte eine rapide Steigerung des Widerstandes, der in Einzelfällen innerhalb von 20 Minuten das Vierfache des Ausgangswertes erreichen konnte.

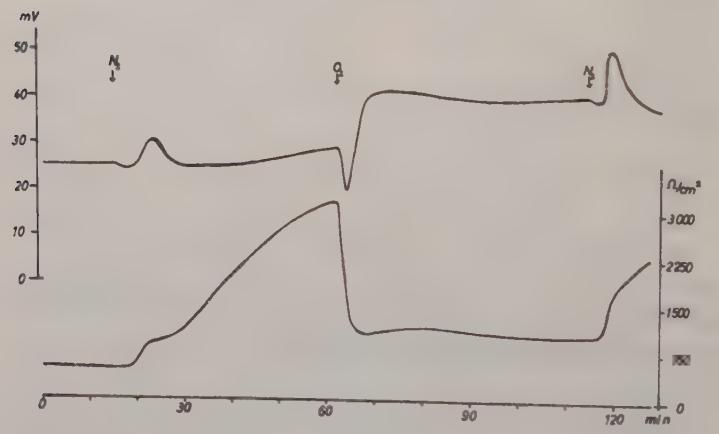


Abb. 7: Verlauf von Potential und Widerstand der Froschhaut bei periodischem Wechsel des Umwälzgases zwischen Sauerstoff und Stickstoff.

Nach Erreichen des Maximums sank der Widerstand bei weiterbestehender Anoxie auf die Werte, die denen von FINKELSTEIN entsprechen, ab. Ebenso sank das Potential praktisch bis auf Null ab.

Die Steilheit des Anstiegs und seine Höhe wechselten deutlich mit der Jahreszeit. Während im Sommer der Widerstand nach 10 Minuten im Mittel auf das $2{,}9 \pm 0{,}5$ - fache angestiegen war, betrug der entsprechende Wert im Winter nur $1{,}6 \pm 0{,}3$.

Der Widerstandsanstieg war praktisch voll reversibel, wenn die Anoxie nicht zu lange, d.h. weniger als 20 bis 30 Minuten bestanden hatte, sonst erfolgte die Rückkehr nur zu einem Punkt, der etwas über dem Ausgangswert lag (Abb. 7). Der Widerstandsabfall nach Sauerstoffzuführung erfolgte innerhalb von Bruchteilen einer Minute, während das Potential zunächst absank und dann schnell wieder auf die alte Höhe oder höher stieg.

Eine Widerstandserhöhung konnte ich auch durch Vergiftung mit Jodessigsäure hervorrufen. Sie verlief ähnlich, war aber wie zu erwarten, irreversibel. Dagegen fiel bei Zugabe von Strophantin das Potential ab, ohne daß der Widerstand wesentlich anstieg.

6. Bestrahlung in Sauerstoff

Die Bestrahlungsserien an Froschhäuten in Lösungen, die mit Sauerstoff angereichert waren, umfassen ohne die Vorversuche Untersuchungen an 150 Tieren mit insgesamt etwa 500 Einzelbestrahlungen. Als Strahlenquelle diente eine Müller MG 150 Röntgenröhre, die mit 24 mA Röhrenstrom bei 70 kV betrieben wurde. Die Dosisleistung an der Haut, die bei einem Fokusabstand von 13 cm 7,5 kR/min betrug, wurde durch Abstandsänderung variiert. Der weiche Anteil der Strahlung wurde durch die vorgelagerte Wasserschicht weitgehend abgefiltert.

Um Artefakte zu vermeiden, wurde die Elektrodenanordnung allein und mit einer montierten abgestorbenen Haut bestrahlt. Es traten keine Effekte auf, die den unten beschriebenen vergleichbar waren.

Potential und Widerstand der Froschhaut zeigten unter Röntgenbestrahlung charakteristische Veränderungen, die im Folgenden dargestellt werden sollen. In Abbildung 8 sind an Hand von 9 Versuchen die typischen Verlaufsformen des Hautpotentials aufgezeigt. Da die strahleninduzierten Änderungen oft durch spontane Potentialschwankungen überdeckt werden, wurde das Differential der Kurve bestimmt und neben das Original gestellt: das Gemeinsame aller Reaktionen ist dadurch viel deutlicher zu erkennen.

In Abb. 8A wurden die Erstbestrahlungen frischer Häute aus einem willkürlich herausgegriffenen Monat (Oktober 1964) dargestellt. Da alle Versuche dieser Abbildung kurz nach der Präparation der Haut durchgeführt wurden (nach 60 bis 90 Minuten), war in allen Fällen das Potential noch im Ansteigen begriffen. Unmittelbar nach Bestrahlungsbeginn änderte sich die Richtung des Potentialverlaufs. Meist kam es zu einem mehr oder weniger tiefen Abfall. Nach Erreichen des Minimums setzte eine Repolarisation ein, die meist zu einer Hyperpolarisation gegenüber dem Ausgangswert führte. In der Differentialdarstellung kommt der biphasische Verlauf der

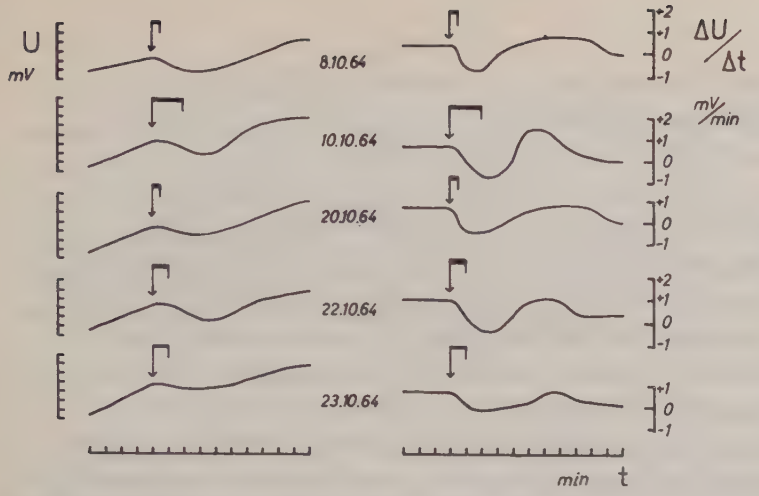


Abb. 8A: Änderung des Potentials unter Bestrahlung.
Aus 5 auf einander folgenden Versuchen innerhalb eines Monats, der zufällig herausgegriffen wurde, (Oktober 1964), sind die Erstbestrahlungen dargestellt. Links: Potentialverlauf, Rechts: Änderung des Potentials pro Minute. Dosisleistung: 3,7 kR/min, Dosis: 1,8; 7,5; 1,8; 3,7; 3,7 kR. Skala links: 1 Teilstrich=1mV; Skala rechts: 1 Teilstrich= Potentialänderung von 1 mV/min. Zeitskala: 1 Teilstrich=1 Minute.

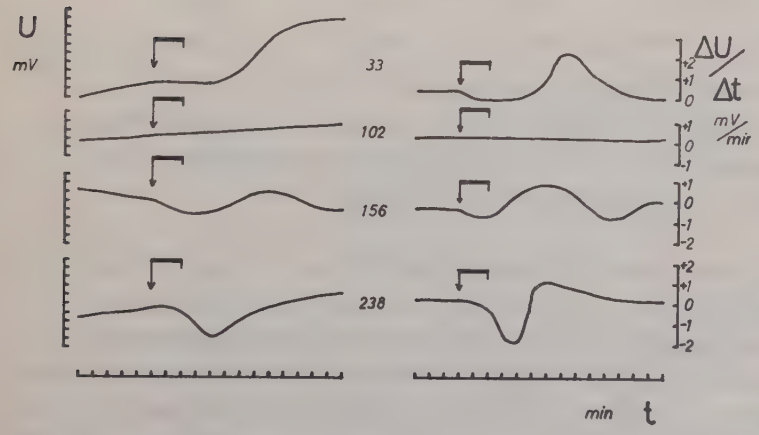


Abb. 8B: Verschiedene Reaktionen des Potentials unter Bestrahlung bei gleicher Dosis (7,5 kR) und Dosisleistung (3,7 kR/min),

Reaktion noch deutlicher zum Vorschein. Eine eindeutige Abhängigkeit der Depolarisation von der Dosis bei gleicher Dosisleistung ist in diesen Kurven nicht zu erkennen.

Auch die gleiche Dosis konnte sehr unterschiedliche Verläufe bewirken. In Abb. 8B wurden verschiedene Reaktionstypen auf einen Bestrahlungsimpuls von gleicher Dosis und Dosisleistung zusammengestellt. In Versuch 33 fiel das Potential nicht ab, der Anstieg kam nur zum Stehen, um dann verstärkt wieder einzusetzen. In Versuch 102 war gar keine Änderung zu entdecken. In Versuch 156 wurde der Abfall des Potentials durch die Bestrahlung noch verstärkt, worauf eine Überkompensation erfolgte. Versuch 238 schließlich zeigte ein Verhalten wie in den Kurven der Abbildung 8A, nur war der Abfall stärker ausgeprägt. Der Wert der Differentialdarstellung kommt bei diesen Kurven besonders zum Vorschein, denn bis auf Versuch 102, bei dem sich nichts änderte, zeigte sich hier in allen Kurven der auch oben gefundene typische biphasische Verlauf.

Tabelle II

	kein Abfall	Abfall angedeutet	deutlicher Abfall von mehreren mV
1. Bestrahlung	20 %	55 %	25 %
spätere Bestrahlung	50 %	45 %	5 %

Abhängigkeit der Depolarisation von der Vorbestrahlung.
Als spätere Bestrahlung galt eine, die nach mindestens 3 Stunden Versuchsdauer und Vorbestrahlung über 15 kR durchgeführt wurde. Dosis: 3,7 kR, Dosisleistung: 3,7 kR/min.

Die erste Phase, die Depolarisation, trat in etwa 80 % der Erstbestrahlungen einer frischen Haut auf (Tab.II). Wurde die Haut schon mehrmals vorbestrahlt oder war seit Versuchsbeginn schon eine längere Zeitspanne verstrichen, so war die Depolarisation nur noch in der Hälfte der Fälle zu sehen. Auch war die Tiefe des Abfalls deutlich geringer als bei einer Erstbestrahlung (Abb.9).

Die Tiefe der initialen Depolarisation war starken Schwankungen unterworfen, nicht selten war sie kaum auszumachen, in anderen Fällen war sie so ausgeprägt, daß man geradezu das Bild eines Aktionspotentials vor sich zu haben meint. Das Absinken von Potential und Widerstand verlief stets gleichsinnig, doch war in der Regel die Widerstandsänderung prozentual größer als die des Potentials (vergl. Abb.9).

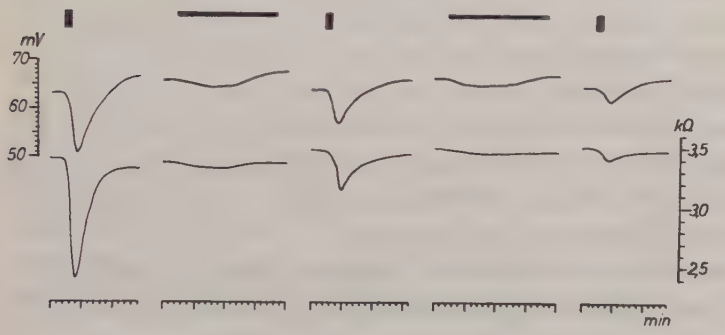


Abb. 9: Versuch Nr. 239 (Mai 1965). Verlauf von Potential (oben) und Widerstand (unten) unter 5 aufeinander folgenden Bestrahlungen mit gleicher Dosis (7,5 kR) bei verschiedener Dosisleistung. Intervall zwischen den Bestrahlungen 60 Minuten.
1., 3. und 5. Bestr.: DL 7,5 kR/min, Dauer 1 min.
2. und 4. Bestr. : DL 470 R/min, Dauer 16 min.

Der Grad der initalen Depolarisation variierte bei den einzelnen Präparaten erheblich, dennoch scheint eine gewisse Abhängigkeit von der Dosisleistung feststellbar zu sein. Bei höherer Dosisleistung fiel das Potential steiler ab und erreichte ein tieferes Minimum. Wenn man die Dosisleistung verringerte, wurde der Abfall flacher und war bei einer Dosisleistung unter 1 kR/min kaum noch nachzuweisen (Abb.9).

Dagegen konnte der Einfluß der Dosis nicht geprüft werden. Man kann zwar verallgemeinernd sagen, daß bei Dosen unter 1 kR eine initiale Depolarisation nur selten zu erkennen war, doch verhinderte die starke individuelle Streuung der Empfindlichkeit jeder einzelnen Haut und die Beeinflußbarkeit der Reaktion durch vorausgegangene Bestrahlungen die Ermittlung einer eindeutigen Dosiswirkungsbeziehung.

Neben den Modalitäten der Bestrahlung selbst war auch der Zeitpunkt der Versuche bedeutsam. Wie die Höhe des Hautwiderstandes je nach Jahreszeit verschieden war, wechselte auch die Tiefe der initialen Depolarisation. Dabei ist besonders die Zeit zwischen April und Juni herauszugreifen, in der die Laichablage und die erste Häutung der Tiere stattfinden. In diesen Monaten war die Haut besonders empfindlich, so daß Einbrüche bis zu 25 % des Ausgangspotentials erzielt werden konnten (Abb.9). Im Sommer war die Haut weniger empfindlich, am wenigsten im Spätherbst und im Winter.

Es wurde mit verschiedenen Pharmaka versucht, die Neigung der Haut zur initialen Depolarisation zu verstärken, so unter anderem mit Adiuretin, Aldosteron, Adrenalin, Cocain und Strophantin, jedoch konnte kein eindeutiger Effekt erzielt werden.

Nach einer von der Dosisleistung des Bestrahlungsimpulses abhängigen Zeitspanne löste eine hyperpolarisierende Bewegung des Potentials die initiale Depolarisation ab, so daß insgesamt das Bild einer biphasischen Reaktion entstand.

Tabelle III zeigt, daß die Dauer der Depolarisation nicht von der Dosis abhängt. Bei gleicher Dosisleistung von 3,7 kR/min betrug sie 3 - 5 Minuten, gleichgültig, ob die Bestrahlung 30 Sekunden oder 8 Minuten dauerte. In letzterem Fall ging die depo-

Tabelle III

Dauer der Bestrahlung (min)	Beginn der Hyperpolarisation (min nach Bestrahlungsbeginn)	Anstiegsmaximum (mV)
1 (= 3,7 kR)	$4 \pm 1,5$	2 ± 1
2 (= 7,5 kR)	5 ± 1	$2 \pm 0,5$
4 (= 15 kR)	5 ± 1	$3 \pm 1,5$
8 (= 30 kR)	4 ± 1	5 ± 2

larisatorische Phase schon unter noch andauernder Bestrahlung in die hyperpolarisatorische Phase über.

Dagegen bestand eine ausgeprägte Abhängigkeit von der Dosisleistung. Bei einer Dosisleistung von 7,5 kR/min begann die Hyperpolarisation nach 3 Minuten, bei einer von 1,8 kR/min nach 6,5 Minuten. In der Abbildung 10 ist die Schwankungsbreite der Depolarisationsdauer bei den verschiedenen verwendeten Dosisleistungen aufgezeichnet. Es läßt sich ohne Zwang eine Gerade durch die Mittelwerte legen, wenn man die Dosisleistung im logarithmischen Maßstab aufträgt.

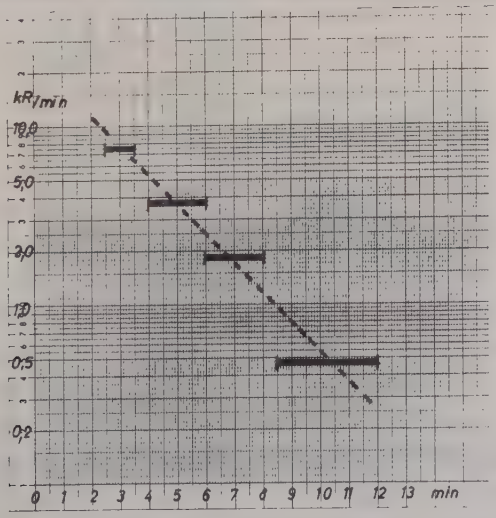


Abb. 10: Abhängigkeit der Depolarisationsdauer von der Dosisleistung. Ordinate im logarithmischen Maßstab: Dosisleistung; Abzisse: Fehlerbreite der Depolarisationsdauer.

5 bis 10 Minuten nach Beginn der Hyperpolarisation war das Ausgangspotential in der Regel um 2 bis 3 mV übertroffen, doch war gerade bei diesem Effekt die Streuung der Ergebnisse besonders groß. Es ließen sich dabei keine Beziehungen zur Stärke der vorausgegangenen Depolarisation entdecken. Eine Abhängigkeit von der Jahreszeit, der Zahl der vorausgegangenen Bestrahlungen und dem Alter der Haut war ebensowenig festzustellen (vorausgesetzt, daß die Haut nicht irreversibel geschädigt war), wie von der Dosisleistung des Bestrahlungsimpulses. Nur die Dosis schien einen, wenn auch nicht eindeutigen Einfluß zu haben (Tab. III). Bei kurzen Bestrahlungszeiten war er nicht nachzuweisen, wenn aber, wie in Abb. 11, die Bestrahlung nach Beginn der Hyperpolarisation noch andauerte, stieg das Potential länger und zu höheren Werten an. Bei Bestrahlung mit besonders hohen Dosen über 50 kR trat nach einer gewissen Dosis eine Depression auf, die aber sofort nach dem Ende der Bestrahlung zum Stillstand kam, worauf eine zweite Hyperpolarisation folgte, die die Höhe der ersten wieder erreichte (Abb. 11). Irreversible Depolarisationen waren erst

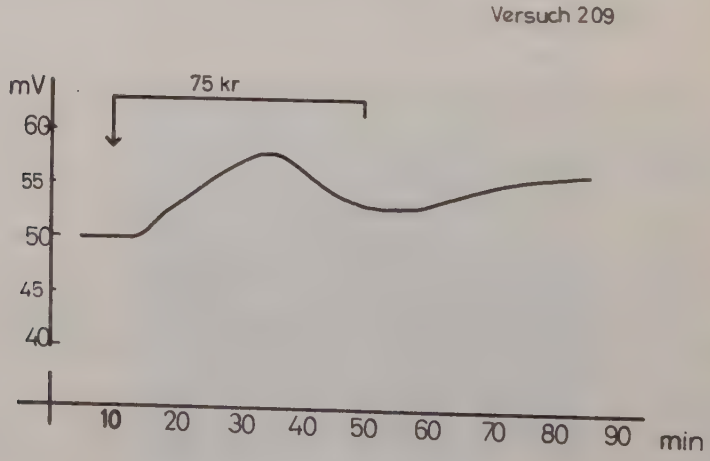


Abb. 11: Versuch Nr. 209: Verlauf des Potentials bei Bestrahlung mit höherer Dosis. DL: 1,8 kR/min, Bestrahlungsdauer 40 Minuten.

bei Häuten zu sehen, die längere Zeit schon in die Kammer eingespannt waren oder besonders lange unter hypoxischen Bedingungen gehalten worden waren oder eine Strahlengesamtdosis von über 100 kR erhalten hatten.

Diese überschießende Reaktion wurde nur am Membranpotential beobachtet. Der Widerstand ging in der Regel nach der gleichen Zeitspanne der Depolarisation auf den Ausgangswert zurück, nicht selten aber erreichte er ihn nicht ganz, so daß eine dauernde Widerstandserniedrigung blieb. Bei Bestrahlungen mit sehr hoher Dosis war der dauernde Widerstandsabfall besonders ausgeprägt und entsprach wohl den oben erwähnten Befunden früherer Untersucher.

Auch die Hyperpolarisation konnte durch die oben aufgezählten Pharmaka nicht beeinflußt werden. Sie ging in der Regel im Verlauf der nächsten 30 Minuten teilweise oder völlig zurück.

Wenn die Lösungen mit Luft statt mit Sauerstoff gesättigt wurden, ergaben sich keine abweichenden Ergebnisse, doch wurde nach entsprechenden Vorversuchen aus praktischen Gründen stets nur reiner Sauerstoff verwendet.

7. Bestrahlung in Stickstoff

Ganz anders als unter Sauerstoff reagierte die Haut in der Phase des Widerstandsanstiegs nach Stickstoffzufuhr (vergl. S. 13 f.), wenn sie mit Röntgenstrahlen bestrahlt wurde (Abb. 12). Wurde ein Bestrahlungsimpuls in den Zeitraum nach Sauerstoffentzug gegeben, in dem das Potential absank und der Widerstand anstieg, so traten im Kurvenverlauf beider Meßgrößen deutliche und charakteristische temporäre Veränderungen auf. Sofort nach Beginn der Bestrahlung stiegen Potential und Widerstand an, bald nach Bestrahlungsende fielen beide wieder ab und folgten ihrem ursprünglichen Verlauf.

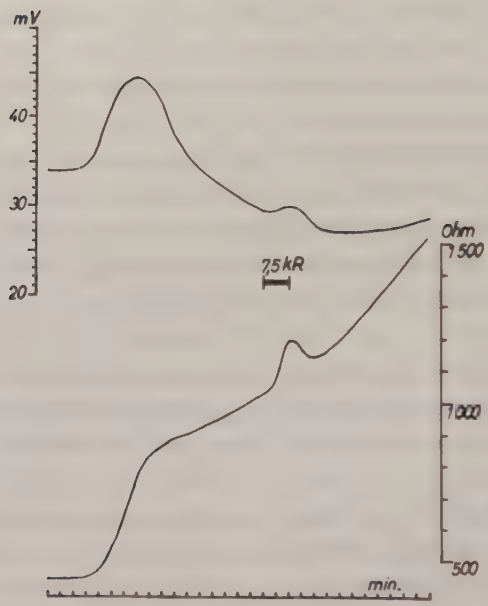


Abb. 12: Verlauf von Potential und Widerstand nach Zuführung von Stickstoff zu Beginn der Kurve. 17 Minuten später Bestrahlung von 2 min bei einer Dosisleistung von 3,7 kR/min.

Im Gegensatz zur Bestrahlung in Sauerstoff waren hier die Veränderungen des Widerstandes besonders eindrucksvoll, sie konnten bis zu 20 % des Ausgangswertes erreichen (Abb.13).

Wie aus den Kurven zu sehen, setzt sich der Strahleneffekt als ein Buckel auf die Kurve des Widerstandsanstiegs während der Stickstoffzufuhr auf, ohne nach dem Abklingen den weiteren Verlauf nennenswert zu beeinflussen. Die bestimmenden Parameter für einen solchen Buckel sind: die Anstiegszeit, die Anstiegshöhe und die Abfallzeit. Diese Werte sind bezogen auf eine extrapolierte Verlängerung des vorausgehenden Kurvenverlaufs.

Abb. 13: Originalkurve Versuch Nr. 126. Widerstandsänderung unter Bestrahlung nach Stickstoffzufuhr. (Die Breite des Bandes ist ein Maß für den Widerstand, vergl. S. 8).

Tabelle IV gibt die Größen in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer bei konstanter Dosisleistung von 3,7 kR/min wieder. Daraus und aus den abgebildeten Kurven läßt sich der typische Ablauf der Reaktion erkennen: Nach einer sehr kurzen Latenzzeit von wenigen Sekunden steigen Widerstand und Potential an. Der Anstieg überdauert das Bestrahlungsende um ca. eine Minute, der größte Teil der Widerstandserhöhung ist aber schon in den ersten 90 Sekunden erreicht, sodaß eine längere Bestrahlung keine nennenswerte Steigerung mehr hervorruft. Nach Erreichen des Maximums des Widerstandes sinkt er, unabhängig von der Dauer der Bestrahlung, ab, bis er in zwei bis drei Minuten dem vorausgehenden Kurvenverlauf weiter folgt.

Tabelle IV

Bestrahlungsdauer (sec) (DL:3,7kR/min)	Anstiegsdauer (sec)	Abfalldauer (sec)	maximale Anstiegshöhe (Ohm)
30	90 ± 30	135 ± 15	100 ± 30
60	120 ± 30	135 ± 45	140 ± 40
120	180 ± 30	150 ± 30	120 ± 40

Mittelwerte und Standardabweichung bei zusammen 25 Versuchen.

Ein gleichartiger Effekt trat auf, wenn man in der Phase des Widerstandsanstiegs nach Jodessigsäurevergiftung bestrahlte. Vergiftung mit Strophantin hatte diesen Effekt nicht.

Um den Anteil der verschiedenen Ionenpermeabilitäten an dem Zustandekommen der Widerstandserhöhung zu bestimmen, wurden Lösungen der betreffenden reinen Salze in die Kammern gefüllt. Dabei zeigte es sich, daß in 0,07 molarer (= isoosmotischer) K_2SO_4 und 0,07 molarer $MgCl_2$ keine Strahleneffekte zu beobachten waren, in 0,07 molarer Na_2SO_4 - Lösung dagegen die Reaktion in typischer Weise auftrat.

Die Abhängigkeit von der Dosisleistung wurde im einzelnen nicht geprüft, nachdem festzustellen war, daß der strahleninduzierte Buckel bei niedrigen Dosisleistungen nur schwer von spontanen Schwankungen abzugrenzen ist.

Diskussion

1. Modell der Entstehung des Froschhautpotentials

Emil DU BOIS REYMOND (1848) stellte als erster fest, daß die Froschhaut der Sitz elektrischer Potentialdifferenzen ist. Unter den vielen Untersuchern, die sich in der Folgezeit mit diesem Phänomen befaßten, sind vor allem GALEOTTI (1904), der die elektrischen Erscheinungen auf Diffusionspotentiale von Ionen zurückführte, und HUF (1935) zu nennen, der zum ersten Mal den Gedanken aussprach, daß Ionenpumpen das für die Entstehung von Diffusionspotentialen notwendige Ungleichgewicht der Ionenverteilung aktiv aufrecht erhalten.

Einen entscheidenden Beitrag zur Aufklärung der Mechanismen leistete USSING (1949) mit der Einführung des radioaktiven Isotops ^{24}Na in die Untersuchungstechnik. Seine zweite wichtige methodische Entwicklung war die "Kurzschlußstromtechnik". Dabei wird der elektrische Strom, der bei völligem Kurzschluß durch eine Spannungskompensationsschaltung fließt, gemessen. Der Kurzschlußstrom repräsentiert dabei den reinen aktiven Transport, da alle anderen treibenden Kräfte, wie Potentialdifferenz und Konzentrationsgefälle, wegfallen. USSING (1951) stellte nun fest, daß die beiden, mit den beiden genannten Methoden feststellbaren Ströme durch die Haut gleich groß sind, und zog daraus den Schluß, daß der aktive Transport von Natrium die einzige Quelle für Potentialunterschied und Hautstrom sei.

Eine umfassende Übersicht über die Arbeiten bis zum Jahre 1960 stellt die Veröffentlichung von USSING (1960) im Handbuch für experimentelle Pharmakologie dar. Alle dort angeführten Befunde ließen sich noch mit dem klassischen Modell von USSING vereinbaren, das daher an den Beginn der Diskussion gestellt wird, bevor neuere Untersuchungen vorgestellt werden sollen.

Nach USSING besteht der aktive Teil der Haut aus zwei Membranen, denen die innere und äußere Membran der Zellen des stratum germinativum entsprechen. Gemäß der bekannten Ionenverteilung in allen Organismen ist intrazellulär ein hoher Kaliumspiegel und ein niedriger Natriumspiegel, innerhalb des Interstitiums und unter experimentellen Bedingungen auch außerhalb der Haut das umgekehrte Verhältnis vorhanden.

Die entscheidenden Hypothesen sind nun, daß die äußere Membran für Natrium und Chlorid gut durchlässig, für Kalium aber praktisch undurchlässig ist, während die innere Membran für Kalium gut durchlässig, dagegen für Natrium praktisch undurchlässig ist. An der inneren Membran arbeitet eine Natrium - Kalium - Austauschpumpe (Abb. 14).

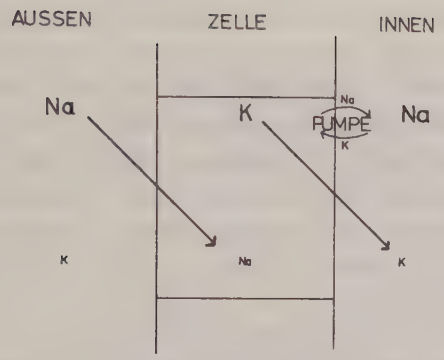
Nach KOEFOED - JOHNSEN und USSING (1958) ist somit das Membranpotential die Summe des Natriumdiffusionspotentials über die äußere Membran und des Kaliumdiffusionspotentials über die innere Membran. Nach der NERNSTschen Gleichung ist dann also:

(GleichungI) $$E = \frac{R\,T}{F} \ln \frac{(Na)a}{(Na)c} + \frac{R\,T}{F} \ln \frac{(K)c}{(K)\,i}$$

Erläuterung der Symbole:

E = Hautpotential
R = Gaskonstante
T = absolute Temperatur
F = Faradaykonstante
(Na)a = Konzentration der Natriumionen in der Außenslösung
(Na)c = Konzentration der Natriumionen in der Zelle
(K)c = Konzentration der Kaliumionen in der Zelle
(K)i = Konzentration der Kaliumionen in der Innenlösung

Diese Formel gilt nur für einen chemischen Gleichgewichtszustand. Für den Fall eines biologischen Fließgleichgewichtes, wie er an Membranen vorliegt, muß statt der Konzentration das Produkt aus Permeabilität und Konzentration der Ionen eingesetzt werden.



$$E = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \frac{Na_a}{Na_c} + \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \frac{K_c}{K_i}$$

Abb. 14: Modell der Entstehung des Froschhautpotentials
Erklärung im Text.
(Nach KOEFOED - JOHNSEN u.a. 1958)

Es ergibt sich dann unter Einbeziehung auch der Chloridionen folgende Gleichung (nach KOEFOED - JOHNSEN u.a. 1958):

(Gleichung II)

$$E = \frac{R\,T}{F} \ln \frac{p^a_{Cl}\,(Cl)c + p^a_{Na}\,(Na)a}{p^a_{Cl}\,(Cl)a + p^a_{Na}\,(Na)c} + \frac{R\,T}{F} \ln \frac{p^i_{Cl}(Cl)i + p^i_K\,(K)c}{p^i_{Cl}(Cl)c + p^i_K\,(K)i}$$

Erläuterung der Symbole:

p^a_{Cl} = Leitfähigkeit der Außenmembran für Chloridionen
p^i_{Cl} = Leitfähigkeit der Innenmembran für Chloridionen
p^a_{Na} = Leitfähigkeit der Außenmembran für Natriumionen
p^i_K = Leitfähigkeit der Innenmembran für Kaliumionen
sonst wie Gleichung I (S. 28)

Da die Zelle stets bestrebt sein wird, das innere Milieu, d.h. (Na)c und (K)c konstant zu halten, hängt das Potential also praktisch von der Natriumkonzentration der Außenlösung, der Kaliumkonzentration der Innenlösung und der Permeabilität dieser Ionen durch die Haut ab. Das oben berechnete E (Gleichung I) stellt aber nur die reine elektromotorische Kraft des Systems dar. Auf das reale Membranpotential der Haut wirken weitere Faktoren modifizierend ein; als wichtigster ist das Leck zu nennen, welches durch die freie Diffundierbarkeit der Chloridionen entsteht und das bestrebt ist, das Potential zu verkleinern (KOEFOED - JOHNSEN u.a. 1958).

2. Neuere Arbeiten zur Elektrophysiologie der Froschhaut

Eine Reihe von Untersuchungen seit 1960 haben manche neuen Aspekte gebracht, die zwar nicht im einzelnen dargestellt werden können, aber doch kurz erwähnt werden sollen.

a) Da ist einmal die Frage, ob wirklich nur das Natriumion aktiv transportiert wird. Obwohl KOEFOED - JOHNSEN (1952) nachgewiesen hatte, daß sich das Chloridion in der isolierten Froschhaut völlig passiv gemäß den elektrochemischen Gradienten verhält, wurden immer wieder Befunde erhoben, die auf einen aktiven Chloridtransport hindeuten: so von KROGH (1939) und von HUF (1964) am lebenden Tier, von JORGENSEN u.a. (1954) an der Krötenhaut und von ZADUNAISKY u.a. (1964) an der isolierten Froschhaut.

b) Das alte Konzept von KOEFOED - JOHNSEN u.a. (1958), daß eine elektroneutrale Natrium - Kalium - Austauschpumpe die Ungleichgewichte der Ionenverteilung aufrecht erhält, und das Hautpotential lediglich ein Diffusionspotential ist, wurde durch die Arbeiten von ESSIG u.a. (1963), KLAHR u.a. (1964) und SNELL u.a. (1965) widerlegt. Man nimmt heute allgemein an, daß die Pumpe direkt elektrogen wirkt, d.h. elektrische Ladung in Form von Natriumionen ohne begleitende Kationen und ohne 1:1 - Kopplung an einen gegenläufigen Kaliumfluß transportiert. Diffusionsvorgänge beeinflussen erst sekundär das so erzeugte Potential.

Die Pumpe braucht zu ihrer Wirksamkeit Energie, und zwar benötigt sie für den Transport von 18 Mol Natriumionen den Umsatz von 1 Mol Sauerstoff (LEAF u.a., 1957; ZERAHN, 1964). Die Pumpe selbst wirkt dabei als ATP-spaltendes Enzym (POST u.a., 1960).

c) Eine besonders große Gruppe von Forschern befaßte sich mit der Frage der Zuordnung elektrischer Erscheinungen zu den Strukturen der Froschhaut. Dabei wurde besonders die von OTTOSON u.a.(1953) eingeführte Punktion der Haut mit Mikroelektroden, wie sie in der Elektrophysiologie der Nerven schon lange gebräuchlich sind, verwendet. Aus den Ergebnissen von ENGBAECK u.a. (1957), USSING u.a. (1964), WHITTEMBURY (1964) und CEREJIDO u.a. (1965) läßt sich entnehmen, daß das Potential in zwei (vergl. Abb. 15) oder auch, in einem Drittel der Fälle, in mehr diskreten Sprüngen ansteigt, die meist an die innere und die äußere Membran der Zellen des stratum germinativum lokalisiert werden. Nur CHOWDHURY u.a.(1964) vertraten die Ansicht, daß das Potential kontinuierlich über den Querschnitt der Haut hin ansteigt.

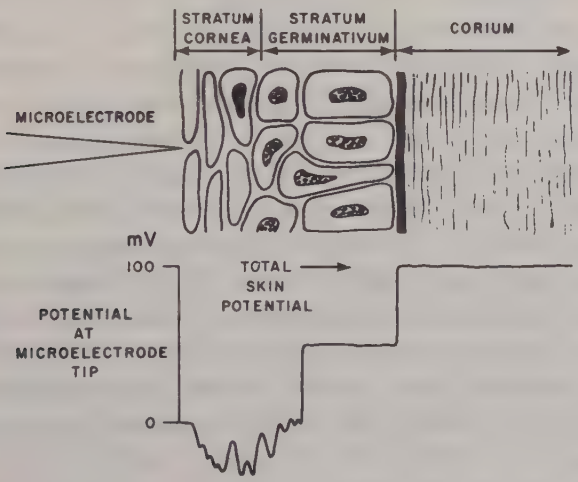


Abb. 15: Schematische Zuordnung des Potentialprofils zu Histologie der Froschhaut.
Aus HOSHIKO (1962).

d) Untersuchungen zur Morphologie der Froschhaut in Bezug auf die Elektrophysiologie sind noch recht spärlich. Es sind nur die elektronenoptischen Untersuchungen von OTTOSON u.a. (1953) und FARQUAR u.a. (1964) zu nennen. Letztere fanden an der Froschhaut zwei durchgehende Membranen, die erste im stratum corneum, die zweite innen vom stratum germinativum. Alle anderen Zellschichten sind von einem zusammenhängenden Interzellularraum umgeben. Häufig sind aber Zellverklebungen und Plasmabrücken vorhanden, so daß das gesamte stratum spinosum und stratum germinativum als funktionelles Syncytium imponieren.

Diese Befunde wurden ergänzt durch histochemische Versuche. FARQUAR u.a. (1964) untersuchten die Verteilung der ATP-ase in der Haut, um einen Hinweis auf den Sitz der Pumpe zu bekommen. An der Basalmembran, an der sie nach USSING lokalisiert sein soll (KOEFOED - JOHNSEN u.a., 1958), war keine Aktivität nachzuweisen, dagegen an allen Zellmembranen der gesamten Epidermis.

Für die Interpretation der oben dargelegten Ergebnisse meiner Untersuchungen spielen diese neueren Befunde alle keine wesentliche Rolle. Nur auf die Bedeutung der Pumpe soll kurz eingegangen werden: Wenn Potentialänderungen als Folge eines experimentellen Eingriffs an der Haut auftreten, so können diese einmal dadurch bedingt sein, daß die Aktivität der Pumpe sich geändert hat. Es ist dann aber zu fordern, daß sich gleichzeitig der Hautstrom im gleichen Ausmaße ändert, unabhängig davon, ob nun eine Austauschpumpe oder eine elektrogene Pumpe angenommen wird. Wenn aber Potentialänderungen bei gleichbleibendem Hautstrom beobachtet werden, so ist primär an Permeabilitätsänderungen zu denken. Es wird im Folgenden zu zeigen sein, daß diese beiden Möglichkeiten nicht immer streng von einander zu trennen sind, daß sie vielmehr oft gleichzeitig auftreten oder einander folgen oder gar einander bedingen und auslösen.

3. Der Einfluß der Jahreszeit

Schon lange ist bekannt, daß der Zeitpunkt der Untersuchungen einen starken Einfluß auf die gefundenen Meßergebnisse hat. Doch ist leider in den wenigsten Veröffentlichungen, auch aus jüngster Zeit, ein Hinweis auf den Zeitraum zu finden, in dem die der Arbeit zugrunde liegenden Versuche durchgeführt wurden. Andererseits gibt es bisher noch keine Arbeit, die die Bedeutung dieses Problems für die Physiologie der Froschhaut einmal prinzipiell geklärt hätte. Auch mein Material ist zu klein - und vor allem nicht auf alle Monate gleichmäßig verteilt -, um eine eindeutige Antwort geben zu können. Einzelne Funktionen der Froschhaut wurden zwar schon in ihrer Abhängigkeit von der Jahreszeit beschrieben, wie die Hautfarbe (HOLMES, 1928) oder die Wasserdurchlässigkeit unter dem Einfluß sexueller Rhythmen (HÜBNER, 1964) oder der Häutungen (JORGENSEN, 1949), die drei- bis viermal im Verlauf eines Sommers stattfinden.

Untersuchungen über die Elektrophysiologie der Froschhaut in Abhängigkeit von der Jahreszeit sind bisher kaum durchgeführt worden. So berichteten HERRERA u.a. (1963) über unterschiedliche Reaktionen der Haut auf ADH - Zugabe während der Wintermonate und der späten Frühlingsmonate in einem kurzen Hinweis im Rahmen ihrer Artikels. MYERS u.a. (1961) stellten fest, daß Sommerfrösche einen höheren Hautstrom erzeugen als Winterfrösche. Eine jahreszeitliche Abhängigkeit wurde auch bei der letalen Wirkung einer Bestrahlung von Fröschen mit ultraviolettem Licht von BONTE (1958) beobachtet. Die LD_{50} ändert sich mit der Jahreszeit entsprechend der Abbildung 16. Da der letale Effekt der UV - Strahlen im wesentlichen auf Permeabilitätsänderungen der Haut beruht (s.S. 2), ist die LD_{50} ein Ausdruck für die Reaktion des Widerstandes der Froschhaut auf die Bestrahlung. Ich habe in Abb. 16 neben die LD_{50} - Werte die Mittelwerte des errechneten Hautstroms für die Monate, in denen ich mehr als 8 Einzelwerte aus dem selben Jahr hatte, eingetragen.

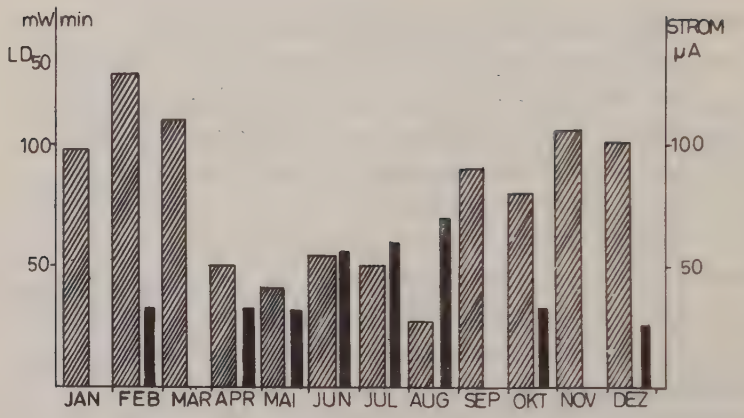


Abb. 16: Die Höhe des Hautstroms (schwarze Säulen) und der LD_{50} für UV - Strahlen (schraffierte Säulen, aus BONTE, 1958) in den einzelnen Monaten. Erklärung im Text.

In den Monaten, in denen die Haut einen hohen Hautstrom aufweist, ist die LD_{50} kleiner, d.h. die Strahlenempfindlichkeit größer (Juni bis August). Eine Ausnahme bilden die Monate April und Mai, in denen bei niedrigem Hautstrom eine hohe UV - Empfindlichkeit herrscht. Eine andere Besonderheit dieses Zeitraumes sind die tiefen Widerstandseinbrüche unter Röntgenbestrahlung. In diesen Monaten findet die erste Frühjahrshäutung statt, doch ob sie oder andere physiologische Vorgänge für dieses widersprüchliche Verhalten verantwortlich sind, ist nicht zu entscheiden.

Zusammenfassend läßt sich folgendes sagen: Im Sommer wird die oberste Epidermisschicht mehrmals abgestoßen, die Empfindlichkeit gegenüber UV - und Röntgenstrahlen ist gesteigert, der elektrische Widerstand ist relativ niedrig, kann aber andererseits nach Sauerstoffentzug auf das Drei- bis Vierfache steigen.

Im Winter jedoch dichtet sich die Haut ab, wird relativ unempfindlich gegenüber Röntgenstrahlen und UV - Licht und reagiert auf Sauerstoffentzug nicht mehr mit der gleichen Widerstandssteigerung wie im Sommer.

4. Anoxie und Verdünnung der Außenlösung

Es ist nicht möglich, den aus Widerstand und Spannung errechneten Quotienten, hier Hautstrom genannt, irgendwelchen Funktionsgrößen der Haut zuzuordnen. Zwar ist nach den Messungen von GERSTNER (1939) die Stromspannungskennlinie der Froschhaut eine Gerade, sodaß der Quotient U/R dem Kurzschlußstrom entsprechen würde. Doch ist dieser sicher nicht gleich dem aktiven Transport, nachdem ich 1. den Kurzschlußfluß von Chloridionen nicht ausgeschaltet habe und 2. außen und innen Lösungen verschiedener Konzentration verwendet habe. Das Bemühen, physiologischere Bedingungen zu schaffen, hat so zu größeren Schwierigkeiten bei der Bewertung der Ergebnisse geführt. Doch spielt der aktive Transport zweifellos die wesentliche Rolle für die Größe des Hautstroms, insbesondere, wenn bei gleichbleibenden Versuchsbedingungen nur relative Änderungen gemessen werden.

Verdünnt man die Außenlösung, so verringert sich der aus Widerstand und Spannung errechnete Strom. Für die Kurve in Abb. 5 (Seite 11) beträgt der geschätzte Strom bei Ringerlösung als Außenlösung 100 $\mu A/cm^2$, bei Ringer/10 nur 70 $\mu A/cm^2$. Diese Abnahme entspricht in ihrer Größenordnung der Abnahme des nach der NERNSTschen Gleichung berechenbaren Diffusionspotentials bei Verdünnung von Na_a auf ein zehntel. Aus der Abbildung 5 geht aber hervor, daß die Haut ihr Potential keinesfalls immer entsprechend senkt, sondern durch Erhöhung ihres Widerstandes ausgleicht oder gar überkompensiert.

Ähnliche Verhältnisse sind bei Anoxie gegeben. Während in dem Versuch von Abb. 12 (Seite 24) durch Sauerstoffentzug der Strom in 20 Minuten von 70 $\mu A/cm^2$ auf 22,5 $\mu A/cm^2$ (also um 2/3 gesunken war, war das Potential nur um ein Fünftel gefallen. Die Differenz wurde durch eine Erhöhung des Widerstandes ausgeglichen.

An diesen zwei Beispielen kann also gezeigt werden, wie durch Änderung der Ionenkonzentration oder Störungen des Stoffwechsels eine plötzliche Verminderung des aktiven Transportes aufgetreten war, durch eine Steigerung des Hautwiderstandes aber ein entsprechendes Absinken des Potentials verhindert wurde. Ein ganz ähnliches Verhalten zeigte die Froschhaut auch gegenüber sprunghaften Änderungen der Versuchstemperatur (KARGER, 1962). Auch hier kam es zu Kompensation und Überkompensation der temperaturbedingten Stromänderung, die genau wie nach Sauerstoffzuführung bzw. -entzug den Charakter einer gedämpften Schwingung hatten (vergl. Abb. 7, Seite 14).

Diese Fälle lassen sich dahingehend interpretieren, daß die Haut bestrebt ist, ihr Potential aufrecht zu erhalten. Wenn nun Störungen, wie z.B. eine verminderte Leistung der Pumpe, dieses Potential gefährden, dann sucht die Haut durch Erhöhung ihres Widerstandes dieser Gefahr zu begegnen.

Prinzipiell ist auch der umgekehrte Mechanismus denkbar, daß nämlich als Folge irgendwelcher Einwirkungen direkt eine Widerstandserhöhung auftreten könnte, wodurch weniger Natriumionen in die Zelle einströmen würden und so durch Verkleinerung des intrazellulären Natriumpools die Transportrate sinken würde. Doch lassen gerade die großen Unterschiede in der Reaktion des Widerstandes zu verschiedenen Jahreszeiten und bei verschiedenen Vitalitätszuständen der Haut vermuten, daß die Stromsenkung, die im Winter wie im Sommer, bei frischen wie bei lange im Versuch gewesenen Häuten nach Sauerstoffentzug gleichartig verläuft, der initiale Schaden ist, auf den die Haut im Sommer mit einem hohen Widerstandsanstieg reagiert, im Winter aber nur im geringeren Ausmaß, sodaß das Potential nicht mehr aufrecht erhalten werden kann.

Daß das Potential und nicht der Strom oder der Widerstand die Regelgröße ist, die die Haut einzuhalten bestrebt ist, kann man auch aus der Tatsache ableiten, daß es, anders als die beiden anderen Größen, über das ganze Jahr hin praktisch

gleich bleibt. Im übrigen erscheint ein solches Verhalten auch sinnvoll, denn gerade das Membranpotential ist das äquivalente Maß für die Verteilung der Ionen in den einzelnen Kompartments. Die Ionenzusammensetzung der einzelnen Körperflüssigkeiten ist aber ein äußerst fein einregulierter Wert, für dessen Konstanterhaltung in niederen wie in höheren Organismen viel Energie aufgewendet wird.

5. Reaktion von Potential und Widerstand der Froschhaut auf Bestrahlung

Bei kurzen Bestrahlungsimpulsen wird in der Mehrzahl der Fälle von Häuten in sauerstoffangereicherten Lösungen nach einer Latenzzeit von Sekunden bis Minuten ein Abfall des Hautpotentials und des Widerstandes beobachtet. Nach Erreichen eines Minimums erfolgt eine Repolarisation meist zu überschießenden Werten. Im Verlauf einer halben Stunde sinkt das Potential dann langsam wieder ab. Der Widerstand sinkt gleichzeitig mit dem Potential, macht aber die überschießende Reaktion nicht mit, sondern kehrt meist innerhalb von Minuten auf den alten Wert zurück.

Bei Bestrahlungen während Sauerstoffentzug wird nur eine temporäre Erhöhung von Potential und Widerstand beobachtet.

Wiederholte Bestrahlungen der gleichen Froschhaut ergaben die ausgeprägtesten biphasischen Reaktionen beim ersten Bestrahlungsimpuls und eine Abnahme der Reaktion im weiteren Verlauf des Versuches. Diese Tatsache sowie die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit von Individuum zu Individuum und in Abhängigkeit von der Jahreszeit u.ä. erlaubten keine eindeutigen quantitativen Bestimmungen der Abhängigkeit der Effektgröße von der Dosis, der Dosisleistung und anderen Versuchsbedingungen.

Folgende Aussagen lassen sich aber machen:

1. Die initialen Erniedrigungen von Potential und Widerstand betrugen bis zu 25 %. Die niedrigste Dosis, bei der eine geringfügige Erniedrigung der Werte mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte, betrug 900 R. Etwas präzisere Angaben können über die Abhängigkeit des Initialeffektes von der Dosisleistung gemacht werden. Die niedrigste Dosisleistung, bei der eben noch eine Einsenkung von Potential und Widerstand zu erkennen war, betrug etwa 0,5 kR/min. Mit zunehmender Dosisleistung wurde die Initialreaktion, gemessen an dem erreichten Minimum von Potential und Widerstand, ausgeprägter und die Zeit bis zum Auftreten der Hyperpolarisation kürzer. Der Abfall des Potentials wurde mit zunehmender Dosisleistung auch steiler.

2. Die unmittelbar nach Erreichen des Minimums einsetzende gegenläufige Potentialänderung führt in 5 bis 10 Minuten meist zu einer Hyperpolarisation gegenüber dem Ausgangswert vor der Bestrahlung und zu einer Rückkehr des Widerstandes auf seinen Ausgangswert. Kurvenverlauf und Höhe des Anstiegs waren von Versuch zu Versuch außerordentlich verschieden. Bei längerer Bestrahlungszeit setzte die Hyperpolarisation schon unter der Bestrahlung ein.

3. Außer diesen meist biphasischen Schwankungen des Potentials und den initialen Widerstandssenkungen blieben im allgemeinen innerhalb der ersten Stunden nach Versuchsbeginn Potential und Widerstand fast unverändert. Erst bei einer Gesamtdosis über 100 kR sank das Potential tiefer ab, ohne sich wieder zu erholen, ebenso nahm der Widerstand stärker ab, sodaß von einer irreversiblen Strahlenschädigung gesprochen werden kann.

4. Bei Bestrahlung nach Sauerstoffentzug wurde keine vergleichbare biphasische Strahlenreaktion beobachtet, sondern nur eine temporäre, innerhalb von Minuten zurückgehende Erhöhung des Widerstandes und des Potentials um bis zu 5 mV bzw. 500 Ohm. Bei Dosisleistungen über 1,8 kR/min war die

Mindestdosis 900 R. Die Abhängigkeit von der Dosisleistung ließ sich nicht untersuchen. Ein völlig analoger Strahleneffekt konnte auch unter Jodessigsäurevergiftung beobachtet werden.

Für die Diskussion ergibt sich also ganz zwanglos eine Aufteilung in die drei hauptsächlichen beobachteten Phänomene:

1. die initiale Senkung von Potential und Widerstand;
2. die Hyperpolarisation
3. die Erhöhung von Widerstand und Potential in Stickstoffatmosphäre.

Aus dem oben gesagten und aus der Analogie zu anderen Sofortreaktionen kann wohl geschlossen werden, daß der zeitlich primäre Strahleneffekt die kurzdauernde Erniedrigung von Widerstand und Potential der Froschhaut ist. Eine solche Depolarisation kann verursacht sein durch eine

a) Änderung der Ionenkonzentrationen,
b) Änderung der Ionenpermeabilitäten oder eine
c) Änderung des aktiven Transportes. (Vergl. S. 32).

Man könnte meinen, daß eine Bestrahlung dadurch eine Spannungsänderung bewirken könnte, daß die von ihr erzeugten Ionen in der Froschhaut zu einer Verschiebung der Ionenkonzentrationen führt. Es läßt sich jedoch zeigen, daß die Zahl der unter den verwendeten Dosen gebildeten Ionen vernachlässigbar klein ist gegenüber den vorhandenen.

Eine temporäre Änderung der Permeabilität der Zellmembran kann dadurch erfolgen, daß es unter der Einwirkung ionisierender Strahlen zu einer Änderung der physikochemischen Struktur der Lipoproteidschichten der Membranen kommt. Wir stehen hier vor dem schwierigsten Problem des Mechanismus der Strahlenwirkung, das sich bisher der Klärung noch entzogen hat. Es kann nur versucht werden, vom allgemein biophysikalischen Standpunkt aus Vermutungen über einen möglichen Wirkungsmechanismus anzustellen. So muß daran gedacht werden, daß Ionisation und Anregung

zu Änderungen des Ladungsmusters der Lipoproteide führen oder daß sich in ihnen radikalische und strahlungschemische Reaktionen abspielen, die zu einer zeitweiligen Permeabilitätsänderung führen. Dabei wäre zum Beispiel an Reaktionen von Sulfhydrylgruppen mit folgender Umfaltung porennaher Strukturproteine zu denken, ähnlich denen, die nach SCHWARTZ u.a. (1960) für die Permeabilitätssteigerung nach ADH - Zugabe verantwortlich sind. Für das Zustandekommen der strahleninduzierten Membranschädigung an Erythrozyten wurde ein ähnlicher Mechanismus bereits nachgewiesen: Unter der Bestrahlung nimmt die Zahl freier SH - Gruppen in der Erythrozytenmembran im gleichen Verhältnis ab wie der Widerstand, gemessen an dem Kaliumverlust der Erythrozyten an eine kaliumfreie Außenlösung (SHAPIRO, 1966). Die Widerstandsabnahme scheint dadurch zustande zu kommen, daß im Inneren der Membran gelegene Sulfhydrylgruppen zu Disulfidbindungen reversibel oxydiert werden (SUTHERLAND u.a., 1966). Die Strahlenwirkung kann durch SH - Gruppen blockierende Substanzen, z.B. p - Chloromercuribenzen, imitiert werden. Ähnliche Versuche an der Froschhaut stehen noch aus.

Auch eine Störung des aktiven Transportes, z.B. durch Enzyminaktivierung, kann nicht völlig ausgeschlossen werden, ist aber unwahrscheinlich, weil der Hautstrom unter der Bestrahlung sogar ansteigt (s.S. 19). Eine reversible Enzyminaktivierung könnte aber auch über eine Beeinflussung des Carriersystems die Hautpermeabilität ändern.

Das Dilemma besteht vor allem darin, daß weder genügend Kenntnisse über die makromolekulare Struktur der Zellmembranen und über die physikochemische Natur der Permeabilitätsvorgänge und ihrer Änderungen vorliegen, noch hinreichende Daten über die Beeinflußbarkeit der Membranstruktur durch ionisierende Strahlen.

Die Hyperpolarisation kann als überschießende Kompensation des Potentialabfalls nach Bestrahlung gedeutet werden. Sie ist in ihren Ausmaßen unabhängig von der vorausgegangenen Depolarisation, die in manchen Fällen, vor allem bei späteren Bestrahlungen, überhaupt nicht mehr nachzuweisen ist. Andererseits kann der vorausgehende Potentialeinbruch so massiv sein, daß er nur unvollständig kompensiert werden kann.

Nachdem der Widerstand in der Repolarisationsphase praktisch nie über den Ausgangswert, auf jeden Fall aber prozentual weniger ansteigt als das Potential, errechnet sich nach dem OHMschen Gesetz ein erhöhter Hautstrom. Man könnte also mit aller gegebenen Vorsicht sagen, daß die Hyperpolarisation zum überwiegenden Teil eine relative Steigerung der Aktivität der Natriumpumpe zur Ursache hat. Der Mechanismus ließe sich vielleicht analog dem der Stromsteigerung nach Adiuretinzugabe erklären (CURRAN u.a., 1963): Durch die Permeabilitätserhöhung strömt vermehrt Natrium in die Zellen ein, d.h. der intrazelluläre Natriumpool nimmt zu, was eine erhöhte Transportrate der Pumpe zur Folge hat.

In der Diskussion des Stickstoffeffektes tauchte der Verdacht auf, eine Widerstandsänderung könnte durch plötzliche strahleninduzierte Schwellung der Zellen und somit durch eine Einengung des Interzellularraumes bedingt sein. Doch ist ein solcher Mechanismus sehr unwahrscheinlich, wenn man bedenkt, daß der Interzellularraum nach den Messungen von HOSHIKO (1961) für den Hautwiderstand praktisch keine Rolle spielt, sondern dieser im wesentlichen an den beiden beschriebenen Membranen zustande kommt.

Es ist ferner zu erwägen, ob nicht durch die Bestrahlung der ohnehin niedrige Sauerstoffpartialdruck im Gewebe akut weiter erniedrigt wird und somit die Reaktion nur ein Ausdruck des plötzlich stärkeren Sauerstoffmangels ist. Doch schließen die Vergiftungsexperimente mit Jodessigsäure diesen Mechanismus aus. Hier tritt bei Sauerstoffübersättigung

genau der gleiche Effekt auf. Andererseits ist hier durch die Blockierung der Glykolyse (Blockierung der Phosphoglycerinaldehyddehydrogenase) wie dort durch Blockierung der oxydativen Phosphorylierung die Bereitstellung von energiereichen Verbindungen unterbunden, die zur Kompensation des Strahlenschadens mit Hilfe des aktiven Transportes z.B. nötig gewesen wären.

Da der Hautstrom bei dieser kurzzeitigen Hyperpolarisation sich praktisch nicht ändert, muß sie im wesentlichen durch eine Widerstandssteigerung hervorgerufen sein. Ob diese Widerstandssteigerung aber ausschließlich die Natriumpermeabilität betrifft, wie aus den Versuchen mit den verschiedenen Salzlösungen hervorzugehen scheint, muß ich dahingestellt sein lassen. Es ist nicht zu erwarten, daß so unphysiologische Bedingungen wie das völlige Fehlen von Natriumionen die selektiven Permeabilitätseigenschaften der Haut unbeeinflußt läßt (USSING u.a., 1965). Hier können nur Experimente mit radioaktiv markierten Ionen sichere Auskunft geben.

Der Kurvenverlauf nach Stickstoffzuführung deutet darauf hin, daß die Haut sich in einer extremen Lage befindet, in der sie eine starke Abdichtung anstrebt, um den Anoxieschaden zu kompensieren. Es wäre nun denkbar, daß eine zusätzliche, das Membranpotential drückende Störung wie eine Bestrahlung unverzüglich die schon vorhandene gegenregulatorische Widerstandserhöhung so verstärken würde, daß eine zeitweilige Überkompensation die Folge wäre. Der Stickstoffeffekt wäre dann als Reaktion auf eine primäre Depression anzusehen, die, da die Haut sich von vorneherein in einem besonderen Reaktionszustand befindet, sofort zur Verfügung stünde und nicht, wie im Falle der Sauerstoffhyperpolarisation, eine längere Latenzzeit aufwiese. In diesem Sinne spricht auch die Tatsache, daß eine Dosisvariation keine Änderung in der Höhe des Anstiegs bewirkt, denn eine sekundäre, reparative Reaktion hängt vielmehr von den Eigentümlichkeiten des Versuchsobjektes als dem irritierenden Agens ab.

In beiden Fällen, unter Sauerstoff - wie unter Stickstoffatmosphäre, resultiert eine Hyperpolarisation aus der initialen, unter Umständen auch latenten Depression des Potentials. Teleologisch ausgedrückt, bemüht sich die Froschhaut, trotz der strahleninduzierten Widerstandserniedrigung ihr physiologisches Potential aufrecht zu erhalten. Sie kann das einmal durch eine Erhöhung des Stromes, d.h. des aktiven Transportes, zum zweiten, beim Versagen dieses Mechanismus (z.B. durch eine Blockierung der oxydativen Phosphorylierung) durch eine Erhöhung des Widerstandes. Welche Mechanismen dieser zweckmäßigen Auswahl zugrunde liegen, ist völlig ungeklärt.

Die oben dargestellten Befunde an der Froschhaut stehen in guter Übereinstimmung mit den Beobachtungen unseres Instituts über die Strahlenwirkung auf das Potential von Pflanzenzellen. Die sogenannten "Radionastien" von Mimosen sind von Depolarisationen der bestrahlten Zellen begleitet (HUG u.a., 1963), die unter der Bestrahlung beginnen und zu einer kritischen Schwelle führen, worauf Aktionspotentiale wie jedes andere eigengesetzlich ablaufen. Ein gleiches Verhalten wurde mit Hilfe intrazellulärer Messungen auch an Nitella nachgewiesen (ESCH u.a., 1963), doch war der Abfall selten ausreichend, um ein Aktionspotential auszulösen. Gleichzeitig mit dem Potential sinkt auch der Widerstand der Zellmembran (RÖTTINGER). Die Steilheit des Abfalls hängt von der Dosisleistung ab.

Obwohl das Bemühen, eine quantitative Dosiswirkungsbeziehung der beobachteten Phänomene aufzustellen, zu unbefriedigenden Ergebnissen führte, und zwar vor allem wegen der erheblichen Variation der Versuchsobjekte, können diese Versuche als Beleg dafür dienen, daß ionisierende Strahlen sowohl an Pflanzen - wie auch an tierischen Zellen unter der Bestrahlung einsetzende reversible Änderungen von Potential und Permeabilität auslösen können, in deren Folge Störungen des Elektrolythaushaltes zu erwarten sind. Es liegt damit wohl nahe, auch als Ursache der Sofortreaktionen ganzer

Tiere (HUG, 1958; BERGEDER, 1965) wie isolierter Organe (HUG u.a., 1960; GRUTSCHKOWSKI, 1967) die Depolarisation der Zellmembran anzusehen, die zu den beobachteten komplexen Bewegungsabläufen führt. Es bleibt eine offene Frage, in welcher Weise und in welchem Ausmaße dieser Vorgang zu der bekannten zellschädigenden Wirkung ionisierender Strahlen, die wir mit biochemischen, morphologischen und zytogenetischen Methoden erfassen, beiträgt. Prinzipiell ist es möglich, daß ein Teil dieser Effekte, die man bisher durch direkte Schädigung der betreffenden molekularen Substrate erklärte, sekundäre Auswirkungen gestörter Zellpermeabilität sind.

Zusammenfassung

1. Eine Apparatur wird beschrieben, die es erlaubt, Widerstand und Potential der isolierten Froschhaut auch unter Röntgenbestrahlung fortlaufend zu registrieren.
2. Es wurde eine starke Abhängigkeit der elektrischen Phänomene von der Jahreszeit gefunden.
3. Sofort nach Entzug des Sauerstoffs stieg der Widerstand bis zum 2 - 4-fachen des Ausgangswertes.
4. In Sauerstoffatmosphäre sanken unter der Bestrahlung der Widerstand und das Potential kurzzeitig ab. Die Depolarisationsgeschwindigkeit, die Tiefe des Abfalls und die Dauer desselben sind von der Dosisleistung des Bestrahlungsimpulses abhängig.
5. Nach der initialen Depolarisation trat eine reaktive Hyperpolarisation auf, die mit einer Steigerung des Hautstroms einherging.
6. In den ersten 30 Minuten eines Sauerstoffentzugs stiegen Widerstand und Potential unter der Bestrahlung für wenige Minuten an und sanken dann auf den alten Verlauf der Kurve zurück.
7. Mögliche Mechanismen für die gefundenen Phänomene werden diskutiert.

Literaturverzeichnis

Amoroso, C. und W. Lorenz: Zur Frage „Erholungsgeschwindigkeit oder Resistenzsteigerung der röntgenbestrahlten Haut des Wasserfrosches bei geringer Fraktionierung".
Strahlentherapie 108, 84 - 92 (1959)

Amson, K.: Worauf beruht die irreziproke Permeabilität der Froschhaut?
Pflügers Arch. ges. Physiol. 225, 446 - 481 (1930)

Bergeder, H.D.: Sofortwirkungen von Röntgenstrahlen bei wirbellosen Tieren und Fröschen.
Biophysik 2, 239 - 246 (1965)

Bergström, R.M., R.Blafield and A. Salmé: Effect of roentgen irradiation on the elasticity of the frog skin.
Acta radiologica 58, 141 - 147 (1961)

Bois - Reymond, E. du: Untersuchungen über die thierische Elektrizität. Bd. II,2. Reimer, Berlin 1848, S. 9 - 20

Bonte, J.: Biologische werking van elektromagnetische energie.
Arcia Uitgaven N.V., Brüssel 1958, S. 1 - 244

Brinkman, R. and T.S. Veninga: Liberation of serotonin in the frog after irradiation.
Int. J. Radiat. Biology 4, 249 (1962)

Bücker, H. und R. Hanke: Die Reaktion der Kapillaren und des Gewebes der Froschschwimmhaut auf UV - Strahlung.
Zeitschr. Naturforschung 126, 629 - 641 (1957)

Caneghem, P. van: Todesursache nach Bestrahlung der hinteren Extremitäten von Fröschen.
Strahlentherapie 125, 441 - 448 (1964)

Cereijido, M. and P.F. Curran: Intracellular electrical potentials in frog skin.
J. Gen. Physiol. 48, 543 - 557 (1965)

Chowdhury, T.K. and S.M. Snell: A microelectrode study of electrical potentials in frog skin and toad bladder.
Lecture at the International Meeting of the Commission on Cell and Membrane Biophysics of the International Organization for Pure and Applied Biophysics.
Paris 1964, unpublished.

Curran, P.F., F.C. Herrera and R. Flanigan: The effect of calcium and ADH on sodium transport across frog skin. II.: Sites and mechanisms of action.
J. Gen. Physiol. 46, 1011 - 1022 (1963)

Engbaeck, L. and T. Hoshiko: Electrical potential gradients through frog skin.
Acta physiol. Scand. 39, 348 - 355 (1957)

Esch,H., H. Miltenburger und O. Hug: Die Beeinflussung elektrischer Potentiale von Algenzellen durch Röntgenstrahlen.
Biophysik 1, 380 - 388 (1964)

Essig, A., H.S. Frazier and A. Leaf: Evidence for "electrogenic" active sodium transport in an epithelial membrane.
Nature (London) 197, 701 (1963)

Farquar, M. and G.E. Palade: Functional organization of amphibian skin.
Proc. National Acad. Sci. 51, 569 - 577 (1964)

Finkelstein, A: Electrical excitability of isolated frog skin and toad bladder.
J. Gen. Physiol. 47, 545 - 565 (1963)

Galeotti, G.: Über die elektromotorischen Kräfte, welche an der Oberfläche tierischer Membranen bei der Berührung mit verschiedenen Elektrolyten zustande kommen.
Zeitschrift Physikal. Chemie 49, 542 - 562 (1904)

Garby, L. and H. Linderholm : The permeability of frog skin to urea with special reference to the effect of aminophylline.
Acta physiol. Scand. 32, 264 - 275 (1954)

Gerstner, H.: Untersuchungen über Permeabilität und Wechselstromgrößen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 246, 1 - 31 (1943)

Gerstner, H.: Polarisierbarkeit und Permeabilität der Froschhaut.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 242, 113 - 125 (1939)

Gildemeister, M.: Über elektrischen Widerstand, Kapazität und Polarisation der Haut.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 176, 84 - 105 (1919)

Graul, E.H.: Untersuchungen über den Einfluß der UV - Strahlen auf die Permeabilität der Froschhaut.
Dissertation Münster 1945

Graul, E.H.: UV - Strahlen und Zellgrenzfläche.
Strahlentherapie 76, 472 - 479 (1947)

Graul, E.H.: Zusammenhänge zwischen Zellpermeabilität und Atmungsstoffwechsel UV - bestrahlter feuchthäutiger Tiere.
Strahlentherapie 78, 257 - 272 (1948)

Grutschkowski, E.: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf den Tonus der isolierten Froschlunge.
Dissertation München 1967

Herrera, F.C. and P.F. Curran: The effect of calcium and antidiuretic hormone on sodium transport across frog skin.
J. Gen. Physiol. 46, 999 - 1010 (1963)

Holmes, S.J.: The biology of the frog. 4th edition Macmillan, New York, 1928

Hoshiko, T.: Electrogenesis in frog skin.
In: Biophysics of physiological and pharmacological actions. Ed. A.M. Shanes. Am. Assoc. Advanc. Sci.Washington D.C., 1961, S. 31 - 47

Hübner, G. und R. Ludewig: Zur Wasserpermeation durch die Froschhaut.
Naturwissenschaften 51, 215 - 216 (1964)

Huf, E.: Versuche über den Zusammenhang zwischen Stoffwechsel, Potentialbildung und Funktion der Froschhaut.
Pflügers Arch. ges, Physiol. 235, 655 - 673 (1935)

Huf, E.G.: persönliche Mitteilung 1964.
Vergl. Biol. Abstracts Vol. 43 (1963), Nr. 9016

Hug, O.D.: Die Auslösung von Fühlerreflexen bei Schnecken durch Röntgen- und alpha - Strahlen.
Strahlentherapie 106, 155 - 160 (1958)

Hug, O.: Biologische Sofortreaktionen auf schwache Strahlendosen.
In: IXth International Congress of Radiology, München, 1959. Hrsg. B. Rajewsky. Thieme, Stuttgart (1960) S. 1181 - 1195

Hug, O. und H.J. Schliep: Immediate reactions of nerves and muscles to ionizing radiation.
In: The Initial Effects of Ionizing Radiation on Cells. Symposium, Moscow, 1960. Academic Press, London and New York, p.287 - 300

Hug. O. und H. Miltenburger: Strahleninduzierte Turgorbewegungen (Radionastien) bei Mimosen und anderen sensitiven Pflanzen.
Naturwissenschaften 49, 499 - 500 (1962)

Hug, O., H. Miltenburger und H. Esch: Elektrophysiologische Begleiterscheinungen strahleninduzierter Bewegungen bei Mimosen.
Biophysik 1, 374 - 379 (1964)

Jorgensen, C.B.: Permeability of the amphibian skin.
Acta physiol. Scand. 18, 171 - 192 (1949)

Jorgensen, C.B., H. Levi and K. Zerahn: On active uptake of Na and Cl ions in anurans.
Acta physiol. Scand. 30, 178 - 190 (1954)

Karger, W.: Oszillatorische Phänomene des elektrischen Potentials an der isolierten Froschhaut nach Temperaturwechsel.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 274, 331 - 339 (1962)

Karger, W. und D. Krause: Der Einfluß von Temperaturstörungen auf Potential und Kurzschlußstrom der isolierten Froschhaut bei Verwendung impenetrabler Anionen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 274, 340 - 344 (1962)

Koefoed - Johnsen, V., H. Levi and H.H. Ussing: The mode of passage of Cl through the isolated frog skin.
Acta physiol. Scand. 25, 150 - 163 (1952)

Koefoed - Johnsen, V. and H.H. Ussing: The nature of the frog skin potential.
Acta physiol. Scand. 42, 298 - 308 (1958)

Koranyi, A. von: Über die Reizbarkeit der Froschhaut gegen Licht und Wärme.
Centralblatt für Physiologie 6, 6 - 8 (1892)

Krieger, K. and O.M. Zorina: The effects of X - rays and gamma - rays on the unilateral permeability of frog skin.
Biophysics (Biofizika, engl. Übers.) 4, 88 - 96 (1959)

Kroetz, C.: Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. VI.: Der Röntgenstrahleneinfluß auf die Durchlässigkeit der überlebenden Froschhautmembran.
Biochem. Zeitschrift 191, 250 - 262 (1927)

Krogh, A.: Osmotic regulation in aquatic animals.
University Press, Cambridge 1939

Leaf, A. and A. Renshaw: Ion transport and respiration of isolated frog skin.
Biochem. J. 65, 82 - 90 (1957)

Linderholm, H.: Active transport of ions through frog skin with special reference to the action of certain diuretics.
Acta physiol. Scand. suppl. 97, 1 - 140 (1952)

Lullies, H.: Methode zur Messung des Widerstandes und der Polarisation von Geweben.
In: Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Urban und Schwarzenberg. Bd. V : 5A, S. 1171 - 1286

Myers, R.M., W.R. Bishop and B.T. Scheer: Anterior pituitary control of active sodium transport across frog skin.
Am. J. Physiol. 200, 444 - 450 (1961)

Ottoson, D., F. Sjöstrand, S. Stenström and G. Swaetichin: Microelectrode studies on the EMF of the frog skin related to electron microscopy of the dermo - epidermal junction.
Acta physiol. Scand. suppl. 29, 611 - 624 (1953)

Parker, G.H.: The skin and the eyes as receptive organs in the reaction of the frogs to light.
Am. J. Physiol. 10, 28 - 36 (1904)

Post, R.L., C.R. Merritt, C.R. Kinsolving and C.D. Albright: Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte.
J. Biol. Chem. 235, 1798 - 1802 (1960)

Rasmussen, H., J.L. Schwartz, M.A. Schoessler and G. Hochster: Studies on the mechanism of action of vasopressin.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 46, 1278 - 1287 (1960)

Röttinger, E.: Dissertation München (in Vorbereitung)

Schueren, G. van der, and J. Bonte: Disturbance of the ion transport across the irradiated skin of amphibia.
Peaceful Uses of Atomic Energy 22, 191 - 200 (1958)

Schwartz, J.L., H. Rasmussen, M.A. Schoessler, L. Silver and C.T.O. Fong: Relation of chemical attachment to physiological action of vasopressin.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 46, 1288 - 1298 (1960)

Shapiro, B., G. Kollmann and J. Asnen: Mechanism of the effect of ionizing radiation on sodium uptake by human erythrocytes.
Radiation Research 27, 139 - 158 (1966)

Snell, F.M. and T.K. Chowdhury: Contralateral effects of sodium and potassium on the electrical potential in frog skin and toad bladder.
Nature (London) 207, 45 - 46 (1965)

Sutherland, R.M., R.I. Weed, A. Rothstein and J.N. Stannard: Localization of the sulfhydryl groups involved in radiation damage to the erythrocyte membrane.
3rd International Congress of Radiation Research, Cortina d'Ampezzo, 1966. Abstract Nr. 860

Ussing, H.H.: The active ion transport through the isolated frog skin in the light of tracer studies.
Acta physiol. Scand. 17, 1 - 37 (1949)

Ussing, H.H. and K. Zerahn: Active transport of sodium as the source of electric current in the short circuited isolated frog skin.
Acta physiol. Scand. 23, 110 - 127 (1951)

Ussing, H.H.: The alkali metal ions in biology. Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. XIII. Hrsg. O. Eichler und A. Farah, Springer, Berlin 1960. S. 1 - 195

Ussing, H.H. and E.E. Windhager: Nature of shunt path and active sodium transport path through frog skin epithelium.
Acta physiol. Scand. 61, 484 - 504 (1964)

Ussing, H.H., T.U.L. Biber and N.S. Bricker: Exposure of the isolated frog skin to high potassium concentrations at the internal surface. II. Changes in epithelial volume, resistance and response to antidiuretic hormone.
J. Gen. Physiol. 48, 425 - 433 (1965)

Whittembury, G.: Electrical potential profile of the toad skin epithelium.
J. Gen. Physiol. 47, 795 - 808 (1964)

Zadunaisky, J.A. and F.W. de Fisch: Active and passive chloride movements across isolated amphibian skin.
Am. J. Physiol. 207, 1010 - 1014 (1964)

Zerahn, K.: Oxygen consumption and active sodium transport in the isolated and shortcircuited frog skin.
Dissertation Copenhagen 1954

An dieser Stelle möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Otto Hug, herzlich danken für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten, für die Freiheit, die er mir bei der Durchführung der Versuche gewährt hat, und für seinen Rat und die Diskussionen, für die er immer Zeit gefunden hat. Mein Dank gilt aber auch allen Mitarbeitern am Strahlenbiologischen Institut, deren Anregungen und Mithilfe die Arbeit gefördert haben.

Die experimentellen Arbeiten wurden z.T. mit Mitteln des Institutes für Biologie der Gesellschaft für Strahlenforschung durchgeführt.

Lebenslauf

Ich wurde am 16. Juli 1940 in Hirschberg im Riesengebirge als Sohn des Dr. med. Christian Trott und seiner Ehefrau Erika, geb. Fleischmann, geboren. Die Volksschulausbildung erfolgte von 1946 bis 1949 in Orlamünde in Thüringen, anschließend in Laufach im Spessart. Von 1950 an besuchte ich das Humanistische Gymnasium in Aschaffenburg und machte dort 1959 das Abitur. Von 1959 bis 1965 studierte ich Medizin an der Universität München, an der ich auch 1960 das Vorphysikum und 1962 das Physikum ablegte. Vom 6. Semester an wurde ich von der Studienstiftung des Deutschen Volkes gefördert, die mir nach bestandenem Staatsexamen im Dezember 1965 durch ein großzügiges Stipendium auch einen halbjährigen Studienaufenthalt an verschiedenen Kliniken und Instituten in Großbritannien ermöglichte. 1966 heiratete ich Frl. Uta Elisabeth Thiele.